



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ŞALAK KAYISI ÇEŞİDİNDE DUMAN SUYU VE KARRİKİNİN TUZLU  
ŞARTLARDA BAZI STRES İLİŞKİLİ GENLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Yasemin KEMEÇ HÜRKAN**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. CÜNEYT AKI**

**ÇANAKKALE – 2023**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞALAK KAYISI ÇEŞİDİNDE DUMAN SUYU VE KARRİKİNİN TUZLU  
ŞARTLARDA BAZI STRES İLİŞKİLİ GENLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

YASEMİN KEMEÇ HÜRKAN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. CÜNEYT AKI

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2020-3345

ÇANAKKALE – 2023



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Yasemin KEMEÇ HÜRKAN tarafından Prof. Dr. Cüneyt AKI yönetiminde hazırlanan ve **28/08/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Şalak Kayısı Çeşidinde Duman Suyu Ve Karrikinin Tuzlu Şartlarda Bazı Stres İlişkili Genler Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

Prof. Dr. Cüneyt AKI

(Danışman)

Prof. Dr. Okan ACAR

Prof. Dr. Kemal Melih TAŞKIN

Doç. Dr. Şeyda SAVALAN

Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

Tez No : 10568713

Tez Savunma Tarihi : 28/08/2023

.....  
Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL  
Enstitü Müdürü

.././2023

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Yasemin KEMEÇ HÜRKAN

28/08/2023

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, karşıma çıkan zorluklarda tüm sabır ve özverisi ile bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Cüneyt AKI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her alanında değerli fikirlerini ve yardımlarını benden esirgemeyen Tez İzleme Komitemde bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Kemal Melih TAŞKIN ve Prof. Dr. Okan ACAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın ana fikrini oluşturmamda bana yardımcı olan, her türlü olumsuzlukları aşmam konusunda fikrini ve yardımlarını esirgemeyen, hayatımın her alanında her zaman yanımda olan ve beni her konuda destekleyen canım eşim Dr. Öğr. Üye. Kaan HÜRKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde benim yanımda olan, beni maddî ve manevî her türlü destekleyen ve hayatta karşılaştığım zorlukların üstesinden geleceğime inanan ve güvenen annem Sultan KEMEÇ'e ve babam Ali KEMEÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

100/2000 YÖK doktora burs programı kapsamında beni destekleyen Yükseköğretim Kurulu Başkanlığı'na ve 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında beni destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı'na sonsuz teşekkür ederimi sunarım.

Yasemin KEMEÇ HÜRKAN  
Çanakkale, Ağustos 2023

## ÖZET

### ŞALAK KAYISI ÇEŞİDİNDE DUMAN SUYU VE KARRİKİNİN TUZLU ŞARTLARDA BAZI STRES İLİŞKİLİ GENLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yasemin KEMEÇ HÜRKAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Cüneyt AKI

28/08/2023, 115

Tuz stresi, dünyadaki bitkisel üretimin %20'sini etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Bitki kaynaklı duman, abiyotik stres koşulları altında ekinlerin tohum çimlenmesini, fide büyümesini ve fizyolojik özelliklerini uyarmada biyolojik olarak aktif bir bitki ürünü olarak rapor edilmiştir. Araştırmada yonca samanı yakılarak duman suyu (DS) elde edilmiştir. DS ve ticari olarak satılan karrikin (KAR1) maddesi ile Şalak kayısı (*Prunus armeniaca* L.) çeşidi tohumlarında çimlenme ve sürgün geliştirme oranları, kök ve gövde uzunlukları, gövde çapı, yaprak sayısı, yaprak alanı belirlenmiştir. Ayrıca tuz stresine karşı antioksidan etki gösteren enzimlere [katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX)] ait genlerin anlatımındaki değişimler qPZR ile araştırılmıştır. Çimlenme yönünden en yüksek oran %60 ile 1:1000 DS ve %72 ile 1 µM KAR1 olmuştur. Sürgün gelişimi, kök ve gövde uzunluğu bakımından en iyi sonucu DS grubunda 1:100, KAR1 grubunda ise 1 µM konsantrasyon vermiştir. Sürgün gelişim oranları DS ve KAR1 grubunda sırası ile %95,83 ve %87,50 olmuştur. Kök uzunluğu DS ve KAR1 grubunda sırası ile 137,68 ve 141,92 mm olurken, gövde uzunluğu sırası ile 103,78 ve 102,67 mm olmuştur. DS ve KAR1 korelasyon matrisinde gövde çapı ve yaprak sayısı dışındaki bütün parametreler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tuz stresi altında kayısı fidelerine DS ve KAR1 uygulamalarının CAT, SOD ve GPX genlerinin ekspresyonunu arttırdığını ve lipid peroksidasyonu seviyesini azalttığını işaret etmektedir. Sonuç olarak, DS ve KAR1'in stres adaptasyonunun düzenlenmesinde büyük önemi olduğu ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Karrikin, Duman Suyu, Şalak Kayısı, Tuz Stresi, Antioksidan Enzimler, Lipit Peroksidasyonu





## ABSTRACT

### DETERMINATION OF THE EFFECTS OF SMOKE WATER AND KARRIKIN ON SOME STRESS-RELATED GENES IN SALT CONDITIONS IN ŞALAK APRICOT VARIETY

Yasemin KEMEÇ HÜRKAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Biological Science

Advisor: Prof. Dr. Cüneyt AKI

28/08/2023, 115

Salt stress is one of the most important abiotic stresses affecting 20% of the world's crop production. Plant-derived smoke has been reported as a biologically active plant product in stimulating seed germination, seedling growth and physiological properties of crops under conditions of abiotic stress. In this thesis study, smoke water (DS) was obtained by burning alfalfa straw. Germination and shoot development rates, root and stem lengths, stem diameter, number of leaves, leaf area were determined in Şalak apricot seeds with DS and KAR1. In addition, changes in the expression of genes belonging to enzymes [(CAT), (SOD) and (GPX)] that have antioxidant effects against salt stress were investigated by qPCR. The highest rate of germination was 1:1000 DS with 60% and 1 µM KAR1 with 72%. In terms of shoot development, root and stem length, 1:100 concentration in DS group and 1 µM concentration in KAR1 group gave the best results. Shoot growth rates were 95.83% and 87.50% in the DS and KAR1 groups, respectively. The root length was 137.68 and 141.92 mm in the DS and KAR1 groups, respectively, while the stem length was 103.78 and 102.67 mm, respectively. It indicates that DS and KAR1 applications to apricot seedlings under salt stress increase the expression of CAT, SOD and GPX genes and decrease lipid peroxidase accumulation. As a result, it has been revealed that DS and KAR1 are of great importance in the regulation of stress adaptation.

**Keywords:** Karrikin, Smoke Water, Şalak Apricot, Salt Stress, Antioxidant Enzymes, Lipid Peroxidase

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI .....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

1.1. Kayısının Toprak İstekleri ve Tuzluluk Stresi.....	4
1.2. Karrikinler.....	6

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

9

2.1. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerin Tohumları ile Yapılan <i>In Vivo</i> Çoğaltım Çalışmaları.....	10
2.2. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerin Tohumları ile Yapılan <i>In Vitro</i> Çoğaltım Çalışmaları.....	13

2.3. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyveler ile İlgili Yapılan Tuzluluk Stresi Çalışmaları .....	19
2.4. Duman Suyu ve Karrikin ile İlgili Literatürler.....	24
2.4.1. Duman Suyu Eldesi ile İlgili Çalışmalar.....	24
2.4.2. Bitki Gelişimine Etkileri ile İlgili Çalışmalar.....	28
2.4.3. Tuz Stresi ve Gen Anlatımı ile İlgili Çalışmalar.....	35

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL YÖNTEM 39

3.1. Materyal.....	42
3.2. Yöntem.....	42
3.2.1. Duman Suyu Eldesi.....	42
3.2.2. HPLC ile Duman Suyu İçeriğindeki Karrikin Miktarının Ölçümü.....	43
3.2.3. Tohum ve Çalışmada Kullanılacak Diğer Malzemelerin Sterilizasyonu.....	43
3.2.4. Tohumların Çimlendirilmesi ve Doku Kültürü Denemeleri.....	45
Kültür Ortamının ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması.....	45
Kayısı Tohumlarının Besi Ortamına Ekimi.....	46
3.2.5. Tohumların Çimlendirilmesi ve <i>In Vivo</i> Ortama Aktarılması.....	46
3.2.6. Morfolojik Parametreler.....	48
Çimlenen Tohum.....	48
Sürgün Geliştiren Tohum.....	48
Kök-Gövde Uzunluğu.....	49
Gövde Çapı.....	49
Bitkilerdeki Yaprak Sayısı.....	49
Yaprak Alanı.....	49
3.2.7. Toprak Analizi.....	50

3.2.8. Tuz Stresi Uygulaması.....	50
3.2.9. Gen Anlatımı Uygulamaları.....	50
Total RNA İzolasyonu.....	51
cDNA Sentezi.....	52
Referans genlerin seçimi, primer tasarımı ve verimlilik çalışmaları.....	54
Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPZR).....	56
3.2.10. Biyokimyasal Analiz.....	58
Lipit Peroksidasyonu Miktarının Belirlenmesi.....	58
3.2.11. İstatistiksel Analizler.....	58

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI

59

4.1. HPLC Bulguları.....	59
4.2. Tohum Sterilizasyonu ile İlgili Bulgular.....	59
4.3. Doku Kültürü Denemeleri için Çimlenen ve Sürgün Geliştiren Tohum ile İlgili Bulgular .....	60
4.4. Tohumların Çimlendirilmesi ve <i>In Vivo</i> Ortama Aktarılması Denemeleri için Morfolojik Parametre Bulguları.....	63
4.4.1. Tohum Çimlenmesi ile İlgili Bulgular.....	63
4.4.2. Sürgün Geliştiren Tohum ile İlgili Bulgular.....	65
4.4.3. Kök Uzunluğu ile İlgili Bulgular.....	66
4.4.4. Gövde Uzunluğu ile İlgili Bulgular.....	67
4.4.5. Gövde Çapı ile İlgili Bulgular.....	68
4.4.6. Yaprak Sayısı ile İlgili Bulgular.....	69
4.4.7. Yaprak Alanı ile İlgili Bulgular.....	69
4.5. Toprak Analizi ile İlgili Bulgular.....	71
4.6. Gen Anlatımı Uygulamaları ile İlgili Bulgular.....	72

4.6.1. Total RNA İzolasyonu ile İlgili Bulgular.....	72	
4.6.2. cDNA Sentezi ile İlgili Bulgular.....	74	
4.6.3. Primer Verimliliği ile İlgili Bulgular.....	74	
4.6.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPZR) ile İlgili Bulgular.....	79	
CAT Gen Anlatımı ile İlgili Bulgular.....	79	
SOD Gen Anlatımı ile İlgili Sonuçlar.....	81	
GPX Gen Anlatımı ile İlgili Sonuçlar.....	83	
4.7. Biyokimyasal Analiz ile İlgili Bulgular.....	84	
4.7.1. Lipit Peroksidasyon Miktarı.....	84	
4.8. Tartışma.....	86	
<b>BEŞİNCİ BÖLÜM</b>		
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>		89
KAYNAKÇA.....	99	
ÖZGEÇMİŞ.....	I	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

g	Gram
g L <sup>-1</sup>	Gram/litre
%	Yüzde oranı
L	Litre
mg	Miligram
mg L <sup>-1</sup>	Miligram/litre
mg mL <sup>-1</sup>	Miligram/mililitre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
mN	Milinormal
M	Molar
ppb	Milyarda bir nano
kg	Kilogram
nmol	Nanomol
nmol L <sup>-1</sup>	Nanomol/litre
ng	Nanogram
ng mL <sup>-1</sup>	Nanogram/mililitre
ng µL <sup>-1</sup>	Nanogram/mikrolitre
nM	Nanomolar
µm	Mikrometre
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
EC	Elektriksel iletkenlik
dS m <sup>-1</sup>	Desisiemens/metre
µS cm <sup>-1</sup>	Mikrosiemens/santimetre
ha	Hektar alan
MDA	Lipit peroksidasyonu
ROT	Reaktif oksijen türleri
OH*	Hidroksil radikali

O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit radikali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
POX	Peroksidaz
APX	Askorbat peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
GPX	Glutatyon peroksidaz
GOPX	Guaiokol peroksidaz
GST	Glutatyon stransferaz
GSH	Glutatyon
KAR	Karrikin
ABA	Absisik asit
GA <sub>3</sub>	Gibberellik asit
NaOCl	Sodyum hipoklorit
BAP	6-Benzylamino purine
NAA	Naftalen asetik asit
TDZ	Thidiazuron
IBA	İndol-3-bütirik asit
MS	Murashige ve Skoog
WPM	Woody Plant Medium
QL	Quoirin and Lepoivre
BA	Benzil adenin
Kin	Kinetin
2,4-D	2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
SH	Schenk and Hildebrandt
IAA	İndol-3 Asetik Asit
ALA	5-aminolevulinik asit
MAN	Mandelonitrile

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Yerli ve tescilli kayısı çeşitlerimiz	3
<b>Tablo 2</b>	Kayısı tohumlarının yüzey sterilizasyonu	42
<b>Tablo 3</b>	cDNA sentezi için kullanılan PZR profili	53
<b>Tablo 4</b>	Referans gen ve primer dizileri	55
<b>Tablo 5</b>	RT-qPZR bileşenleri ve konsantrasyonları	57
<b>Tablo 6</b>	RT-qPZR için kullanılan PZR profili	57
<b>Tablo 7</b>	Tohumların yüzey sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının ve sürelerinin etkisi	60
<b>Tablo 8</b>	<i>In vitro</i> denemelerde DS ve BAP'ın çimlenme üzerine etkileri	61
<b>Tablo 9</b>	<i>In vitro</i> denemelerde DS ve BAP'ın sürgün gelişimi üzerine etkileri	62
<b>Tablo 10</b>	DS ve KAR1'in çimlenme üzerine etkileri	64
<b>Tablo 11</b>	DS ve KAR1'in sürgün gelişimi üzerine etkileri	65
<b>Tablo 12</b>	DS ve KAR1'in kök gelişimi üzerine etkileri	66
<b>Tablo 13</b>	DS ve KAR1'in gövde uzunluğuna etkisi	67
<b>Tablo 14</b>	DS ve KAR1'in gövde çapı üzerine etkisi	68
<b>Tablo 15</b>	DS ve KAR1'in yaprak sayısı üzerine etkisi	69
<b>Tablo 16</b>	DS ve KAR1'in yaprak alanı üzerine etkisi	70
<b>Tablo 17</b>	Toprak örneklerinin alındığı bölgelerdeki EC ve pH değeri	72
<b>Tablo 18</b>	RNA ekstraksiyonu sonucunda qubit cihazı ile ölçülen RNA konsantrasyon verileri	73
<b>Tablo 19</b>	Literatür ve bu çalışmada elde edilen verilerin karşılaştırılması	87



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Karrikin ailesi	7
Şekil 2	Kullanılan materyalin sırasıyla ağaç, meyve ve tohum hali	42
Şekil 3	A: Yonca samanını kül fırınında yakma işlemi, B: Elde edilen duman suyu	43
Şekil 4	A: Tam tohum, B: Yarım tohum, C: Tohumların besi yerine ekimi	46
Şekil 5	Tohumların petri kaplarına ekim işlemi	47
Şekil 6	Çimlendirme çalışması için hazırlanan deney grupları (DS: duman suyu, KAR1: karrikin1 maddesi)	47
Şekil 7	Viyollere aktarılan deney grupları	48
Şekil 8	A: Çimlenen tohum, B: Sürgün geliştiren tohum	49
Şekil 9	ImageJ bilgisayar programı ile yaprak alanının ölçülmesi	50
Şekil 10	A: Homojenize edilmiş dokuların santrifüj edildikten sonraki hali, B: Çökelen RNA parçası	51
Şekil 11	Kullanılan markerın haritası	52
Şekil 12	Kullanılan markerın haritası	53
Şekil 13	Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu için örnek çoğalma eğrisi	56
Şekil 14	A: KAR1 maddesinin pik zamanı (retetion time), B: DS'nin pik zamanı (retetion time)	59
Şekil 15	A: 1:500 DS'nin çimlenmeye etkisi, B: 1:500 DS'nin sürgün gelişimine etkisi, C: 1:500+BAP'ın sürgün gelişimine etkisi	61
Şekil 16	Köklerde meydana gelen kararma ve kahverengileşme	62
Şekil 17	A: 1 µM KAR1 maddesinin çimlenmeye etkisi, B: 1:1000 DS'nun çimlenmeye etkisi	63
Şekil 18	Sürgün geliştiren ve gelişimlerini tamamlayan bitkiler	65
Şekil 19	Duman suyu ve karrikinin kök gelişimi üzerine etkileri	66

<b>Şekil 20</b>	Duman suyu ve karrikinın gövde uzunluğuna etkileri	67
<b>Şekil 21</b>	Morfolojik veriler arasındaki korelasyon matrisi	71
<b>Şekil 22</b>	cDNA için kullanılan total yaprak RNA'ları. Kuyucuklarda sırası ile kontrol, 100 mM NaCl 3. sa, 100 mM NaCl 6. sa, 100 mM NaCl 9. sa, 1:100 DS 0. sa, 1:100 DS 3. sa, 1:100 DS 6. sa, 1:100 DS 9. sa, 1 µM KAR1 0. sa, 1 µM KAR1 3. sa, 1 µM KAR1 6. sa, 1 µM KAR1 9. sa örnekler vardır	73
<b>Şekil 23</b>	cDNA sentezi sonrasında sentezin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği, ACT referans genine ait primerler kullanılarak PCR ile teyit edilmiştir. Kuyucuklarda sırası ile kontrol, 100 mM NaCl 3. sa, 100 mM NaCl 6. sa, 100 mM NaCl 9. sa, 1:100 DS 0. sa, 1:100 DS 3. sa, 1:100 DS 6. sa, 1:100 DS 9. sa, 1 µM KAR1 0. sa, 1 µM KAR1 3. sa, 1 µM KAR1 6. sa, 1 µM KAR1 9. sa örnekler vardır	74
<b>Şekil 24</b>	ACT genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi	75
<b>Şekil 25</b>	CAT genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi	76
<b>Şekil 26</b>	SOD genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi	77
<b>Şekil 27</b>	GPX genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi	78
<b>Şekil 28</b>	Primerlerin erime eğrisi analizleri	79
<b>Şekil 29</b>	CAT qPZR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat)	80
<b>Şekil 30</b>	SOD qPZR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat)	81
<b>Şekil 31</b>	GPX qPZR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat)	83
<b>Şekil 32</b>	Duman suyu ve karrikinın lipit peroksidasyonu üzerine etkileri. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat)	85

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Türkiye gerek iklim ve toprak özellikleri bakımından gerekse yeraltı ve yerüstü kaynakları bakımından oldukça zengin bir ülkedir. Anadolu'da çok çeşitli meyve ve sebze yetiştirilip ihraç edilmesi Anadolu'nun uygun ekolojik koşullarının bir göstergesidir. Ülkemiz meyve tür, çeşit ve üretim miktarı bakımından dünyada önemli meyve üreticisi ülkeleri arasında yer almaktadır. Anadolu armut, elma, kızılıçık, kiraz, vişne, erik, kestane, ceviz, badem, fıstık, fındık, nar, incir, zeytin ve üzümün anavatanıdır. Bu meyve türlerinin dışında çeşitli amaçlar için faydalanılan karayemiş, böğürtlen, kuşburnu, alıç, idris, buttum, melengiç, çitlenbik, keçiboynuzu, iğde ve daha pek çok meyve ağacı doğal olarak yetişmektedir (Asma, 2011).

Anadolu'nun verimli topraklarında 2500 yıldan beri üretilip ticareti yapılan meyvelerden birisi de kayısıdır. Kayısı (*P. armeniaca*) Rosaceae (Gülgiller) familyasına ait sert çekirdekli meyveler grubunda yer almaktadır. Kayısı tohumla çoğaltılması ve çok değişik ekolojik koşullarda yetiştirilmesi sonucunda 6-8 ekolojik gruba ve 13 bölgesel alt gruba ayrılmaktadır (Asma, 2011; Layne vd., 1996; Ledbetter, 2008). Kayısının anavatanı Orta Asya'dan Kuzey Çin'e kadar oldukça geniş bir alanı kapsamaktadır. Günümüzde kayısı ağaçlarına çok soğuk bölgelerden (Sibirya), subtropik bölgelere (Kuzey Afrika), çölden (Orta Asya), nemli alanlara (Japonya ve Doğu Çin) kadar çok geniş bir yelpazede rastlanılmaktadır. Kayısı M.Ö. 334 yılında Büyük İskender'in Asya Seferi sırasında askerler tarafından İran ve Transkafkaslar yoluyla Anadolu'ya getirilmiştir. Ayrıca İran-Azerbaycan eyaleti (Güney Azerbaycan) kayısı yetiştiriciliği açısından önemli bir yere sahiptir ve bu bölge gen kaynakları açısından çok zengindir (Asma, 2011; Faust vd., 1998; Gharaghani vd., 2017; Layne vd., 1996; Vasebi vd., 2019).

Kayısı insan sağlığı açısından önemli bir meyve olup şeker, potasyum, fosfor, kalsiyum, demir, diyet lifi ve A vitamini ( $\beta$ -karoten) bakımından oldukça zengindir. Kayısı kuru formda A vitamini bakımından zenginken (100 g kuru kayısıda yaklaşık 10.000-12.000 IU A vitamini bulunur), çağla döneminde C vitamini bakımından oldukça zengindir (10mg/100g C vitamini içerir). Kayısı zengin bir antioksidan olan A vitamini sayesinde vücut

direncini arttırarak enfeksiyon ve kansere karşı koruyucu özelliğinin yanı sıra göz sağlığı, epitel doku, endokrin bezlerin çalışması, kemik ve diş gelişimi bakımından oldukça yararlıdır (Açkurt, 1999; Otlu vd., 2008; Yücecan, 1994). İçeriğindeki potasyum sayesinde hepatit ve siroz tedavisinde, kalp yetmezliğinde kullanımı tavsiye edilmektedir. Diyet lifi (100 g kuru kayısıda yaklaşık 7-24 g bulunmaktadır), kabızlık, apandisit, irritabl kolon sendromu, hemoroid, şişmanlık, diş hastalıkları, kronik kalp hastalığı, şeker hastalığı ve kolon kanseri gibi hastalıklarda fayda sağlamanın yanı sıra bağırsakların düzenli çalışmasını da sağlamaktadır (Asma, 2011; Ural, 1995).

Türkiye’de yaklaşık 58 kayısı çeşidi bulunmaktadır. Bunlardan 28’i tescilli kayısı çeşitlerimizdir (Tablo 1). Şalak (Aprikoz) Iğdır ve Kağızman bölgesinde yetiştiriciliği yapılan sofralık kayısı çeşididir. Meyveleri oblong (uzun) şekilli ve çok iri olup ortalama meyve ağırlığı 50-65 g’dır. Meyveleri tatlı, kabuk ve et rengi sarıdır, şekli simetrik ve karın çizgisi çok belirgindir. Çekirdekleri uzun ve tatlıdır, ortalama ağırlığı ise 2,1-2,6 g ağırlığındadır. Suda çözünür kuru madde miktarı %17-20, pH 4,4-4,8 ve toplam asitlik %0,30-0,50’dir. Iğdır ve Malatya şartlarında Haziran ayının son haftasında olgunlaşır (Asma, 2011; Aydoğdu, 2016).

Tablo 1

Yerli ve tescilli kayısı çeşitlerimiz (Asma, 2011; Anonim, 2022)

Yerli ve Tescilli Kayısı Çeşitleri		
Hacıhaliloğlu*	Çataloğlu*	Şekerpare*
Hasanbey*	Çöloğlu*	Dilbay
Kabaşlı*	Alyanak*	Mahmudun Eriği*
Soğancı*	Aprikoz (Şalak)*	Adilcevaz-5
Tokaloğlu-Erzincan	İmrahor*	HacıkHz
Tokaloğlu -Yalova	Kuru Kabuk*	İsmailağa
Tokaloğlu-Konya Ereğli	Şam*	İri Bitirgen*
Tokaloğlu-İzmir	Turfanda İzmir*	Karacabey*
Çiğili İzmir*	Çekirge 52	Şahinbey
Sakit-1-2*-3-4-5-6-7	Ağerik	Mektep*
Turfanda Eskimalatya*	Hırmanlı	Proyma*
Ethembey*	Geç ve Güz Aprikoz	Levent*
Özal	Kamelya	Kadıoğlu
Ziraat Okulu	Roxana*	Casna Drenova*
Kayısı Eriği	İnciaz Eriği	Alkaya*
Alatayıldızı	Stark Early Orange*	Çağrıbey
Çağataybey	Ordubat*	Dr. Kaşka

\* Tescilli kayısı çeşitlerimiz.

Türkiye’de Malatya, Elazığ, Erzincan, Sivas, Kahramanmaraş, Mut (Mersin), Isparta, Hatay ve Antalya (Akdeniz Bölgesi), Iğdır-Kağızman, Afyon, Manisa ve İzmir (Ege Bölgesi), Kayseri, Konya, Ankara, Nevşehir, Niğde, Yozgat, Karaman ve Aksaray (İç Anadolu Bölgesi), Çanakkale, Balıkesir, Tekirdağ ve Edirne (Marmara Bölgesi) illerinde kayısı yetiştiriciliği yapılmaktadır (Asma, 2011; Aydoğdu, 2016). Kayısı dünyada en fazla Asya kıtası (İran) ve Akdeniz’e yakın olan ülkelerde, Afrika, Amerika ve Avrupa kıtalarında yayılmış ve yetiştirme alanı bulmuş bir üründür. Kayısının Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2022 verilerine göre, dünyada 562 bin hektar alanda (ha) üretimi yapılmakta olup, bu üretim alanında Türkiye’nin payı ise %23,6’dır. Kayısı ekim alanında önemli diğer ülkeler sırasıyla İran, Özbekistan, Cezayir, İspanya ve İtalya’dır. Türkiye FAO 2022 verilerine göre, dünya genelinde 833 bin ton ile taze kayısı üretiminde birinci sırada yer almaktadır. FAO 2022 verilerine göre, dünyada toplam 169,7 bin ton kuru kayısı ihracatı yapılırken, 95 bin ton (%56) kuru kayısı Türkiye tarafından ihraç edilmektedir. Türkiye’de 2021 yılı üretim verilerine göre, zerdali dahil toplamda 1,36 milyon dekar alanda kayısı üretimi gerçekleştirilmiştir. Kayısı üretim alanında %63,5 ile Malatya birinci sıradadır. Malatya’yı sırası

ile Elazığ (%7,6), Kahramanmaraş (%6,6), Mersin (%6,4), Iğdır (%2,9) ve Isparta (%1,9) izlemektedir. Türkiye’de 2021 üretim döneminde zerdali dahil toplam 859,5 bin ton kayısı üretimi yapılmıştır. 389 bin ton üretim ile Malatya birinci sıradadır. Türkiye üretiminin %48,7’lik kısmını oluşturmaktadır. Malatya’yı sırası ile Mersin (%20,3), Iğdır (%5,4), Elazığ (%3,9), Isparta (%2,8), Hatay (%2,6) ve Kahramanmaraş (%2,3) takip etmektedir. Kuru kayısı üretiminde Malatya ilk sırada yer alırken diğer iller sırası ile Elazığ, Sivas, Kahramanmaraş ve Mersin’dir (TEPGE, 2022).

### **1.1. Kayısının Toprak İstekleri ve Tuzluluk Stresi**

Kayısı ağaçları toprak istekleri bakımından derin geçirgen, sıcak, organik madde ve besin maddelerince zengin, taban suyu yüksek olmayan drenajı iyi, pH: 6,5-7,5 arasında olan, tınlı veya tınlı- kireçli, tuzluluk problemi olmayan toprakları tercih ederler (Asma, 2011; Korkmaz, 2007).

Tuzlu topraklar, elektriksel iletkenliği (EC) 4 dS m<sup>-1</sup>’den fazla; pH değeri 8,5’den az sodyum yüzdesi ise 15’den az olan topraklardır (Demirbaş ve Balkan, 2018; Karaoğlu vd., 2018). Toprakta tuzluluk doğal ve yapay oluşum olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir. Bunlardan birincisi (doğal oluşum) kurak ve yarı kurak alanlarda, aşırı sıcak şartlarda, düz havzalarda toprak drenajının yetersiz oluşu ile yağışlarla taşınan tuzların toprak yüzeyine çıkması ile oluşur. İkincisi (yapay oluşum) ise bilinçsiz sulama ile taban suyunun yükselmesi ve aşırı gübre kullanımı ile uzun yıllar toprakta meydana gelen birikim sonucunda oluşur (Özbek vd., 1999; Sönmez ve Sönmez, 2007). Dünyada yaklaşık olarak %46 oranında kurak ve yarı kurak alan bulunmaktadır. Bu alanların yaklaşık %50’sinde ise değişik düzeylerde tuzluluk sorunu bulunmaktadır. FAO/UNESCO Dünya Toprak Haritası verilerine dayanarak, dünya genelinde 954 milyon ha tuzdan etkilenmiş ve üretkenliği kısıtlanmış toprak bulunduğu bildirilmektedir. Dünya genelinde tuzlu topraklar; Afrika’da 80,5 milyon, Avustralya’da 357,3 milyon, Amerika’da 146,9 milyon, Avrupa’da 50,8 milyon ve Asya kıtasında 319,3 milyon hektar alan kaplamaktadır. Ülkemizde de bu tip topraklar yaklaşık olarak 2 milyon ha olduğu belirtilmektedir. Günümüzde her geçen gün tuzluluktan dolayı birçok tarım alanı bozularak elden çıkmaktadır. Önlemler alınmadığı takdirde çölleşme kaçınılmaz olacaktır (Karakaya vd., 2018; Sönmez, 2003). Bitkiler tuza

karşı gösterdikleri tepkiye göre halofitler ve glikofitler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Halofitler tuza dayanıklı bitki grubudur ve 300-400 mM tuz konsantrasyonunda rahatlıkla yaşayabilirler. Glikofitler ise tuza duyarlı bitki grubudur ve 100-200 mM tuz konsantrasyonunda yaşayamazlar (Karaoğlu vd., 2018). Yapılan birçok çalışmaya göre kayısı tuzluluk stresine karşı hassas bitkiler grubuna girmektedir (Bernstein vd., 1956; Bernstein, 1965; Gucci ve Tattini, 1997; Karaoğlu ve Yalçın, 2018; Maas, 1984; William, 1986).

Bitkilerde tuzluluk stresinin etkileri ozmotik ve iyon stresi olarak iki şekilde meydana gelmektedir. Bitkilerin kök bölgesinde ve toprakta biriken tuz köklerden su alımını kısıtlar ve ozmotik stres meydana gelir. Ozmotik stres bitkilerde, besin dengesinin ve membran özelliklerinin bozulmasına, fotosentetik aktivite ve stoma açıklığının azalmasına, azalan fotosentetik aktivite sonucu reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunun artması sonucunda oksidatif hasarın meydana gelmesine neden olur (Munns ve Tester, 2008; Rahnama vd., 2010). Bitkilerde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}$  iyonlarının birikmesi ile iyon stresi meydana gelir.  $\text{Na}^+$  iyonu  $\text{K}^+$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının alınımını ve stoma açıklığının düzenlenmesini engellerken,  $\text{Cl}$  ise klorofil yıkımına neden olarak fotosentetik aktivitede bozulmaya neden olur. İyon toksisitesi, kök ve yapraklarda fazla iyon alınımı sonucu iyon dengesinde bozulmalara ve fizyolojik bozukluklara neden olmaktadır (Demirbaş vd., 2013; Tavakkoli vd., 2011).

Bitkilerde çevresel stresler sonucunda hidroksil radikali ( $\text{OH}^*$ ), süperoksit radikali ( $\text{O}_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gibi ROT'un artışı ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif stres meydana gelmektedir. ROT üretimi ve detoksifikasyonu her zaman bir denge halindedir. Çeşitli nedenlerden dolayı bu dengenin bozulması durumunda proteinlerde oksidasyon, membran lipitlerinde peroksidasyon, DNA ve RNA'da hasar meydana gelir ve hücrenin ölümü ile sonuçlanır (Choudhury vd., 2017). Bitkiler çevresel stresten kaynaklı olarak ROT artışına karşı çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bitkiler, hücrelerini oksidatif hasardan koruyan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Enzimatik antioksidan sistemleri, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), glutatyon peroksidaz (GPX), guaiakol peroksidaz (GOPX), glutatyon-s

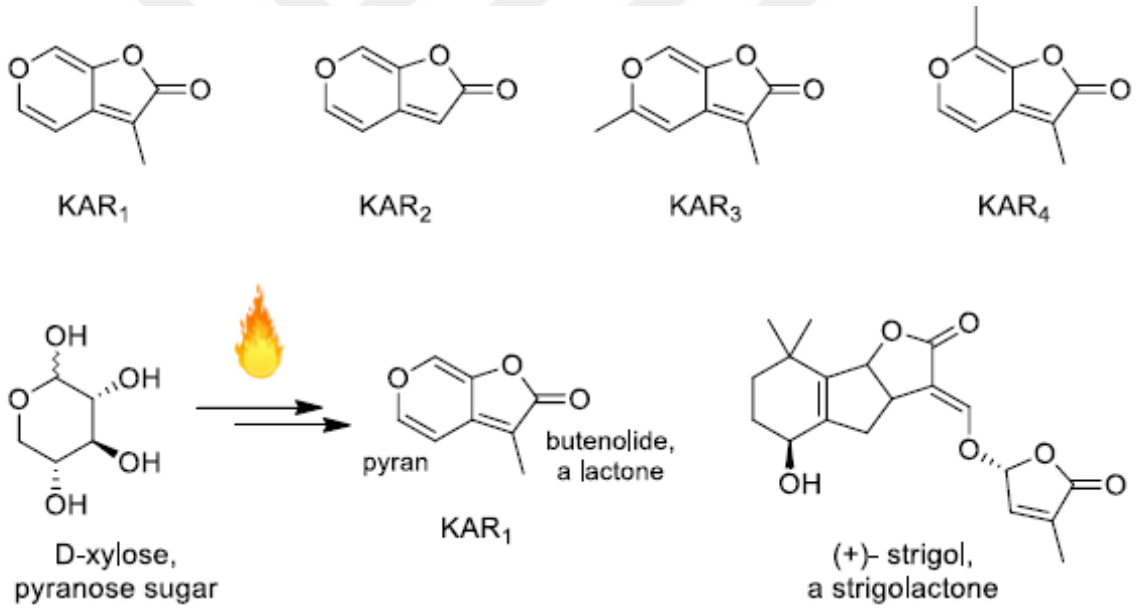
transferaz (GST)'dir. Enzimatik olmayan antioksidan sistemleri ise askorbik asit, glutatyon (GSH), alkaloidler, fenolik bileşikler, protein olmayan aminoasitler ve  $\alpha$ -tokoferollerdir (Demirbaş ve Acar, 2017; Gill ve Tuteja, 2010).

## 1.2. Karrikinler

Dünyada Akdeniz tipi ekosistemler, Şili ve Kaliforniya'nın Büyük Okyanusa bakan kıyılarında, Avustralya'nın batı ve güney kesimlerinde, Güney Afrika'nın Kap bölgesinde ve Akdeniz havzasında yer alır ( Beeby ve Brennan, 1997; Türkan vd., 1985). Akdeniz tipi ekosistemlerde yangın vejetasyonu şekillendiren bir olgu olduğundan dolayı orada yayılış gösteren bitkilerin evriminde büyük öneme sahiptir ve doğal seçilimin bir sonucu olarak hayatta kalabilmek için bazı uyum mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu uyum mekanizmaları; dayanıklı kabuk oluşturma, yeniden filizlenme, tohum tutma ve yangınla uyarılan tohum dağılımı, yangın ile uyarılan çiçeklenme, kolay tutuşabilirlik, erken yaşlarda üremeye başlama ve yangın ile uyarılan çimlenmedir (Tavşanoğlu vd., 2004). Yangın ile uyarılan çimlenme iki şekilde olmaktadır. Birincisi, yangın ile oluşan ısı şoku dormansi durumunda bulunan sert kabuklu tohumun kabuğunu çatlatıp ya da eriterek suyun geçişine izin vermesi ile olur (Christensen, 1985; Keeley, 1995). İkincisi ise, yanmış odunun ortamda bulunmasıyla ve duman yoluyla kimyasal olarak gerçekleşir (Keeley vd., 1985; 1986; 1997; 1998). De Lange ve Boucher, (1990) tarafından, bitki kaynaklı dumanın tohum çimlenmesini sıcaklıktan daha fazla teşvik ettiği bildirilmiştir. Sadece orman yangınları sonucunda oluşan dumanın tohum çimlenmesini teşvik etmediği, aynı zamanda laboratuvar ortamında üretilen dumanın da tohum çimlenmesini teşvik ettiği bulunmuştur. *Themeda triandra* Forssk. bitkisinin yanması ile elde edilen dumanın dormant tohumlarda çimlenmeyi teşvik ettiği gözlenmiştir (Baxter vd., 1994). Kuru veya yaş bitki materyali yakıldığında (Aktif maddeler 160-200 °C'de oluşmaktadır) ortaya çıkan suda çözülebilen uçucu bileşikler yüksek sıcaklıklarda buharlaşmaktadırlar, suda çözüldüklerinde birçok türün tohumlarının çimlenmesini teşvik etmelerinin yanında aynı zamanda fide büyümesini, sürgün dallanmasını, kök oluşumunu, çiçeklenmeyi ve abiyotik stres durumlarında toleransı da teşvik ederler (Brown ve Van Staden 1997; De Cuyper vd., 2017).



Bitkisel materyalden elde edilen dumanın aktif kısmında 71 tane bileşik tanımlanmıştır (Baldwin vd., 1994). Bunlardan butenolidlerin, azot oksitlerin ve siyanohidrinlerin çimlenmeyi teşvik edici özelliği olduğu saptanmıştır (Nelson vd., 2012). Bu maddeler suda çözülebilen, yapısını uzun süre koruyabilen, ısıya dayanıklı ve düşük konsantrasyonları oldukça yüksek aktiviteye sahip kimyasallardır (Baldwin vd., 1994; Van Staden vd., 2000). Flematti vd., (2004), duman suyunu (DS) likit kromatografi ile fraksiyonlarına ayırıp her bir fraksiyonu tohum çimlenme testi için kullanmıştır ve DS'nin içeriğindeki aktif bileşiği böylelikle tespit etmiştir. Bu bileşik 3-metil-2H-furo [2,3-c] pyran-2-one sistematik adıyla bir piran halkasına kaynaşmış butenolid olarak bilinen özel bir lakton türüdür. Bu bileşik kimyasal yapısı olarak karrikinler grubuna ait bir madde olup karrikinolide olarak adlandırılmıştır. Karrikinler, KAR olarak kısaltılır ve dumandaki tanımlanmalarına göre numaralandırılırlar (Şekil 1).



Şekil 1. Karrikin ailesi (Flematti vd., 2015).

KAR, yanan bitkisel materyalin (saman, selüloz ve şeker de dahil olmak üzere karbonhidratların ısıtılması ya da yakılması sonucunda oluşabilmektedir) dumanında bulunan bitki büyüme düzenleyicisi grubuna girmektedir (Flematti vd., 2011). KAR sadece C, H ve O içeren bir piran halkasına kaynaştırılmış bir butenolit olarak bilinen spesifik bir lakton tipidir ve bu özelliğinden dolayı strigolaktonlara benzemektedir (Flematti vd., 2015). Bu zamana kadar altı tane KAR keşfedilmiştir. Bunlar; KAR<sub>1</sub>, KAR<sub>2</sub>, KAR<sub>3</sub>, KAR<sub>4</sub>, KAR<sub>5</sub>

ve KAR6 olarak adlandırılmıştır, ancak genellikle dumanda en bol bulunan ve tohum çimlenmesinde en aktif olanı KAR1'dir (Nelson vd., 2012).

Araştırmada yonca (*Medicago sativa* L.) samanı yakılarak elde edilen ve içeriğinde bitkilerin gelişimini teşvik eden maddelerin bulunduğu duman suyunun (DS) ve sentetik karrikin (KAR1) maddesinin kayısında (*P. armeniaca*, cv. Şalak) tuz kaynaklı abiyotik strese karşı uygulandığında antioksidan savunma sisteminde neden olan değişimleri ve tuz stresine karşı koruma sağlayıp sağlamadığını belirlemeyi amaçlamaktadır. Bu amaca yönelik; şalak çeşidi kayısı tohumları DS ve KAR1 maddesi ile yetiştirilerek çimlenme oranı, sürgün geliştirme oranı, kök ve gövde uzunlukları, gövde çapı, yaprak sayısı, yaprak alanı belirlenmiştir, lipit peroksidasyon (TBARS) seviyesi belirlenmiştir ve tuz stresine karşı antioksidan etki gösteren enzimlere [katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX)] ait genlerin anlatımındaki değişimler RT-qPCR ile araştırılmıştır. Bu araştırmadaki uygulamaların hepsi kayısı bitkisinde ilk defa deneneceğinden ve literatürde bir ilk olduğundan dolayı çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kayısı fidanı üretiminde en ucuz ve en kolay yöntem aşısı ile çoğaltım yöntemidir. Aşısı ile çoğaltım yönteminde genellikle kültüre alınmış kayısı çeşitlerinin çekirdekleri ve zerdali çoğür anaçları kullanılır. Bazen de badem, şeftali ve erik anaçları kullanılır. Anaç seçiminde toprak şartları ve iklim, meyve kalitesi ve verimi, hastalık ve zararlılar, ağaç büyüklüğü ve aşısı uyumsuzluğu gibi faktörler büyük önem taşımaktadır. En iyi anaç farklı toprak şartlarına adapte olabilen, kalem ile uyuşma problemi olmayan, çoğaltılması kolay olanıdır. Kayısı üretiminde büyük bir problem olan virüsten ari fidan üretimi için genellikle doğal veya *in vitro* yöntemler ile elde edilen sürgün ucu aşılama yöntemi kullanılmaktadır. Kayısıyı çeşit özelliğini kaybetmeden tohum ile üretmek oldukça zordur. Birden fazla kayısı çeşidinin bulunduğu bir bahçede yabancı dölleme olacağından dolayı heterozigotluk olacaktır. Bu da kayısının çeşit özelliğinin kaybolmasına neden olacaktır. Bu durumun olmaması için tek bir çeşitin bulunduğu kayısı bahçelerinden tohum almak gerekmektedir (Asma, 2011; Yıldırım, 2006). Bazı tohum türlerinin mekanik ve fizyolojik engelleri kaldırılarak tohum çimlenmesi artırılabilir. Örneğin tohumların su ve gaz geçirgenliğini arttırmak için *in vivo* ortam şartlarında katlama yöntemi kullanılır. Kayısı tohumu için optimum soğukta katlama sıcaklığı +2 ve 4 °C aralığındadır. Yaklaşık 0 °C ve +6 °C'nin üzerindeki bir sıcaklıkta, dinlenme fazının (dormansi) üstesinden gelmek için gereken soğutma dozu tohumlar tarafından daha yavaş birikmeye neden olur ve çimlenme gecikir (Szymajda vd., 2013). Suszka, (1967)'ya göre, ilk kayısı tohumlarının çimlenmesine kadar olan katlama süresi 77 ile 98 gün arasında iken, Fadl vd., (1978) ve Polat, (2007)'e göre ise 72'inci günde en iyi tohum çimlenme oranı elde edilmektedir. Jakubowski, (2004)'e göre kayısı tohumlarının en az 50 günlük katlama gerektirdiğini ve sürenin tohumların genotipine bağlı olduğunu bildirmiştir. Tohumların dormansisini kırmak için gereken katlama süresinin uzunluğunu bilmek fidanlık uygulamasında esastır. Buna ve fidanlıkta tohum ekimi için planlanan tarihe dayanarak, katlama uygulamasına başlama tarihi belirlenmektedir. Tohum dormansisini kırmanın bir diğer yolu da ABA gibi büyümeyi engelleyici maddelerin uzaklaştırılması için tohumların suda bekletilmesi işlemidir. Embriyonun dormansi durumunun üstesinden gelmesine yardımcı olmak için gibberellik asit (GA<sub>3</sub>) gibi büyüme düzenleyicileri ile muamele etmek ya da 10 ile 12 hafta boyunca 3 ile 5 °C sıcaklıkta tohum vernalizasyonunu sağlamak da diğer bir yöntemdir (Mayer vd., 2017).

Kayısının *in vivo* ve *in vitro* çoğaltımı ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Genellikle *in vivo* ortam şartlarında soğuk nemli katlama yöntemi kullanılmıştır.

## 2.1. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerin Tohumları ile Yapılan *In Vivo* Çoğaltım Çalışmaları

Szymajda vd., (2019), kayısı türlerinin tohumlarının dormansi halini kırmak için endokarpta, tohum kabuğunda ve endospermde bulunan absisik asitin (ABA) etkisini azaltmak için tohumun bu kısımlarının uzaklaştırılması ile çimlenen tohumların sayısının arttırılabileceğini düşünmüşlerdir. Çalışmada üç şeftali çeşidi “Madison”, “Elberta” ve “Rakoniewicka” ile üç kayısı çeşidinin “M II.42”, “Bella” ve “Somo” tohumlarına farklı muameleler uygulayarak tohum çimlenmesi ve elde edilen genç fidelerin büyüme verileri incelenmiştir. Tohum muameleleri, 5 °C'de farklı soğukta katlama sürelerini ve endokarpın, endospermli tohum kabuğunun ve embriyonun kotiledonlarının bir kısmının çıkarılmasını içermektedir. Şeftali çeşitleri için yaklaşık %96 ve kayısı çeşitleri için %100 olan en iyi tohum/embriyo çimlenmesi, tohumların 90 gün boyunca soğukta katlama işlemine ve daha sonra endosperm ile tohum kabuğunun çıkarılıp embriyoların 20 °C sıcaklığa tabi tutulmasıyla elde edilmiştir. Bu şekilde muamele edilen tohumlardan elde edilen fideler iyi bir büyüme göstermiştir. Bu muameleler kullanılarak daha fazla sayıda kayısı ve şeftali fidanı elde etmek ve bu türlerin üreme verimini artırmak mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Hussein vd., (2020), *P. armeniaca* (Zaginia çeşidi) tohumlarında farklı soğukta katlama süreleri (0, 15, 30, 45 ve 60 gün) ile üç farklı tarımsal ortamın (turba yosunu, 1: 2 turba yosunu ve tınlı toprak) ve gübrelemenin (iki farklı konsantrasyon hümik asit (2, 4 g L<sup>-1</sup>)) çimlenme ve bitki gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonuçlar, 45 günlük soğukta katlama periyodu ve turba yosunlu tarım ortamının yanı sıra 4 g L<sup>-1</sup> seviyesinde hümik asit ile gübrelemenin, kayısı tohumu çimlenme yüzdesini (%96,67) ve kayısı fidelerinin büyümesini diğer uygulamalara göre önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur.

Szymajda vd., (2013), MN-1, MN-2, MN-4, MN-6, MN-46, MN-53 ve MN-59 olarak adlandırılan *P. armeniaca* çeşitlerinin en iyi anaç olma potansiyellerini araştırmışlardır. Çalışmada farklı katlama sürelerinin (50, 60, 70, 80, 90, 100 ve 110 gün)

tohum çimlenme oranına etkileri incelenmiştir. 50. günde tohumlarda çimlenme meydana gelmiştir, fakat en iyi çimlenme oranı 70-90 gün arasındaki katlama süresinde meydana gelmiştir.

Polat, (2007), farklı katlama sürelerinin (0, 30, 45 ve 60 gün) Hacıhaliloğlu kayısı çeşitlerinin fide çıkışları, tohum ve çekirdeklerinin çimlenmesi üzerine etkilerini incelemiştir. Tohumlar ekimden sonra 7 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. İlk çıkış oranları ve süreleri ile maksimum çıkış oranları ve süreleri araştırılmıştır. Hem tohumlar hem de çekirdekler için en erken çıkış (sırasıyla 12 ve 17. gün), 60 günlük katlama işlemi için elde edilmiştir. Bu süre, tedavi edilmeyen kontrol grubu için 63. gün olarak kaydedilmiştir. Tohum ve çekirdekler için ortalama ilk çıkış oranları 60 günlük katlama süresi için %24 iken, kontrol için %12 olarak kaydedilmiştir. En yüksek çıkış oranı (%92), 60 gün boyunca katlama işlemi uygulanan tohumlarda 33. günde, en yüksek çıkış oranı ise kontrol uygulamasında 96. günde %54 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak maksimum çıkış hızı ve süresi birlikte değerlendirildiğinde 45 ve 60 günlük katlama uygulaması diğer uygulamalara göre daha olumlu sonuçlar verdiği bulunmuştur.

Marín vd., (2002), bu çalışmada, Prunus cinslerinin tohumlarında iki katlama sıcaklığı (0° ve 4 °C) karşılaştırılmış ve türler arası hibrit embriyoların gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Süreci optimize etmek için embriyo boyutunun etkisi de belirlenmiştir. Veriler, katlama sıcaklığı 4 °C olduğunda tohumların %91'inde çimlenmenin gerçekleştiğini göstermiştir ve bu değer ile 0 °C'ye göre en iyi çimlenme oranı sağlanmıştır. Katlama sırasında, ekimden 30 ve 60 gün sonra embriyo ağırlığı ve embriyo ağırlığındaki artış değerlendirilmiştir. Katlama sıcaklığı, ekimden 60 gün sonra hem embriyo ağırlığında hem de embriyo ağırlığındaki artışta önemli bir etki gösterirken, embriyonun büyüklüğüne daha az etki göstermiştir.

Radhi vd., (2013), *P. armeniaca* bitkisinin tohumlarında soğuk katlama 5 C°±1 ve sıcak katlamanın (oda sıcaklığında) çimlenme ve büyüme oranlarına etkisini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. 45 günlük bir katlama süresi sonunda sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçlar, soğuk katlamanın tohum çimlenmesini ve fide uzunluğunu önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Veriler sırasıyla %74,72 ve 62,57 cm'dir.

Hakimi, (2019), beş farklı *P. amygdalus* L. genotipine ait tohumların çimlenmesi ve bu tohumlardan elde edilen çöğürlerin gelişimi üzerine değişik katlama sürelerinin etkilerini belirlemek amacı ile yaptığı çalışmada, tohumlar nemli perlit ortamında 0, 15 ve 30 gün boyunca 4 C° sıcaklıkta katlamaya bırakılmıştır. Daha sonra tohumlar viyollere aktarılmış ve tohumlarda çimlenme hızı ve çimlenme oranı belirlenmiştir. Tohumlarda çimlenme hızı ve oranı genel olarak 30 günlük katlamaya alınan tohumlarda en yüksek seviyeye çıkmıştır. En yüksek gövde uzunluğu ve gövde çapı gelişimi Kahharbayi çeşidi 15 gün katlama uygulamasından elde edilmiştir.

Edizer vd., (2009), *P. avium* L. tohumlarına, farklı dozlarda (500, 1000 ve 1500 ppm) GA<sub>3</sub>'te 24 saat bekletilmiş ve daha sonrasında katlama ortamına (4±1 °C) konulmuştur. Tohumlar 60, 75, 90, 105 ve 120 gün katlama süresinden sonra çimlenme ortamına aktararak sonuçlar değerlendirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre %90 ile en yüksek çimlenme oranı, Tip-E'de 1000 ppm GA<sub>3</sub> uygulandıktan sonra 105 gün katlama sonrası olarak belirlenmiştir. Tip-E dışında diğer tüm tiplerde 8. günden sonra hiç çimlenme gerçekleşmediği belirtilmiştir.

Çetinbaş ve Koyuncu, (2005), kuş kirazı (*P. avium* L.) tohumlarında tohum kabuğunun ve katlama uygulamalarının dormansi mekanizması üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Tohumlar katlamaya alınmadan önce 24 saat suda bekletilmiştir. Daha sonra 80, 100 ve 120 gün 4±1 °C sıcaklıkta katlamaya alındıktan sonra kabuklu ve kabuksuz olarak çimlendirilmişlerdir. 120 gün katlanan kabuklu ve kabuksuz tohumlarda çimlenme oranları sırası ile %44,53 ve %56,91 olarak bulunmuştur. Kabuksuz tohumlarda çimlenme daha hızlı ve erken başladığı tespit edilmiştir.

Ghayyad, (2018), Altı farklı Prunus (*P. amygdalus* L., *P. armeniaca*, *P. domestica* L., *P. persica* L., *P. mahaleb* L. ve *P. avium* L.) türü için çimlenme optimizasyonu çalışması yapmıştır. Bunun için farklı konsantrasyonlarda GA<sub>3</sub> (1,3,5 mg L<sup>-1</sup>) ve düşük sıcaklığın (5 °C) laboratuvar koşullarında filtre kağıdı üzerinde 6 farklı Prunus kotiledonlarından izole edilen embriyoların uzunluklarını nasıl etkilediği belirlenmiştir. En yüksek çimlenme yüzdesi (%96,67) soğuk uygulaması olmadan 1 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ya da 3 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + soğuk uygulaması ile *P. amygdalus* türünde olmuştur. En yüksek embriyo uzunluğu (15,47 mm) ise soğuk uygulaması olmadan 1 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ile yine *P. amygdalus* türünde olmuştur. *P.*

*mahaleb* ve *P. avium* 3 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + soğuk uygulamasında sırasıyla %31,16 ve %33,33 gibi düşük çimlenme yüzdeleri göstermiştir. *P. armeniaca* türünde en yüksek çimlenme yüzdesi (%91,67) 1 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + soğuk uygulaması, *P. domestica* türünde ise 1 veya 3 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + soğuk uygulaması (%80) olmuştur. *P. persica*, *P. mahaleb* ve *P. avium* türlerinde çimlenme 1 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + soğuk uygulamasında sırasıyla %76,67, %31,16 ve %33,33 olmuştur.

## 2.2. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerin Tohumları ile Yapılan *İn Vitro* Çoğaltım Çalışmaları

Yıldırım, (2006), Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinin tohum, nodal tomurcuk ve sürgün ucunu kullanarak sterilizasyon optimizasyonu ve organogenesis çalışması yapmıştır. Sterilizasyon çalışması için tohumları %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içerisinde 15 dakika (dk.); nodal tomurcukları %5 NaOCl içerisinde 10 dk. ve sürgün uçlarını ise %10 NaOCl içerisinde 15 dk. bekletmenin uygun olacağını tespit etmiştir. 1 mg L<sup>-1</sup> 6-Benzylamino purine (BAP) içeren kültür ortamında kayısı tohumlarında %67 çimlenme olurken sürgün uzunluğunun 17,99 mm olduğu görülmüştür. Tohumdan elde edilen sürgünlerin rejenerasyonu için; 1 mg L<sup>-1</sup> BAP kullanılmış ve 3,68 ± 0,65 adet sürgün ve ortalama sürgün uzunluğunun 10,66 ± 0,90 mm olduğu tespit edilmiştir. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin çoğaltımında ise; 1 mg L<sup>-1</sup> BAP kullanılarak 2,64 ± 0,69 adet sürgün elde edilmiş ve 5,80 ± 0,40 mm ortalama sürgün uzunluğu olduğu bulunmuştur. Tohumdan elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için; 0,5 mg L<sup>-1</sup> naftalen asetik asit (NAA) kullanımı %60 oranında köklenme ile en iyi sonucu verdiği gözlenmiştir. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için; 2 mg L<sup>-1</sup> IBA kullanımı %60 oranında köklenme ile en iyi sonucu göstermiştir.

Wang vd., (2011), “Canino”, “Dorada” ve “Moniqui” kayısı çeşitlerinin olgun tohumlarının hipokotil dilimlerinden adventif sürgün rejenerasyonu üzerinde çalışmışlardır. Sterilizasyon işlemi için endokarpı kırılan tohum 20 dk. boyunca %1’lik NaOCl ve 20 µL Tween-20 içeren 100 mL’lik steril saf su içerisinde bekletilmiştir. Dört kere steril saf su ile durulandıktan sonra steril saf su içerisinde bir gece boyunca 4 °C’de bekletilmiştir. Sürgün rejenerasyon yüzdeleri sırasıyla %31,7 (Canino), %44,4 (Dorada) ve %46,9 (Moniqui) olarak bulunmuşlardır. Yapılan istatistik çalışmaya göre thidiazuron (TDZ) ve indol-3-bütirik

asit (IBA) hormonları üç kültür için de rejenerasyon yüzdeleri bakımından anlamlı bulunmamıştır. Ortalama olarak, “Canino” çeşidi (%26,7), “Moniqui” ve “Dorada” çeşidine göre (sırasıyla %37,8 ve %36,0) önemli ölçüde ( $P < 0,05$ ) daha az rejenerasyon yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

Wang vd., (2013), yapılan çalışmada eksplant olarak dört kayısı çeşidinden (Canino, Dorada, Real Fino, Moniquí) ve bir anaçtan [“ansu Maxim” (*P. armeniaca* L. var. “ansu Maxim”)] elde edilen olgun tohumların kotiledonları kullanılmıştır. Sterilizasyon işlemi için endokarpı kırılan tohum 20 dk. boyunca %1’lik NaOCl ve 20 µL Tween-20 içeren 100 mL’lik steril saf su içerisinde bekletilmiştir. Dört kere steril saf su ile durulandıktan sonra steril saf su içerisinde bir gece boyunca 4 °C’de bekletilmiştir. Çalışma için dört farklı besiyeri [SRM (shoot regeneration medium), QL (Quoirin ve Lepoivre), MS (Murashige and Skoog) ve WPM (woody plant medium)] kullanılmıştır. TDZ ve IBA bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Sürgün rejenerasyonu ‘ansu Maxim’ eksplantlarında gözlenmiştir. Kullanılan besiyerlerinin sürgün oluşum yüzdeleri sırasıyla 35,7±5,7 ile MS, 45,2±6,3 ile WPM ve 46,7±5 ile QL’dir. QL besiyeri sürgün oluşum yüzdesi bakımından yüksek olsa da üçü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. En yüksek rejenerasyon yüzdeleri TDZ (4 ve 8 µM) ve 0,25 µM IBA ile birlikte iki haftalık karanlık inkübasyon süresi ile elde edilmiştir ve “Canino”, “Dorada”, “Moniquí”, “Real Fino” ve “ansu Maxim” için sırasıyla % 67,2, %56,8, %66,7, %46,3 ve %66,7’ye varan rejenerasyon yüzdelerine ulaşılmıştır.

Yıldırım, (2012), yapmış olduğu çalışmada 15 farklı kayısı çeşidi (Hacıhaliloğlu, Çataloğlu, Kabaası, Alyanak, Tokaloğlu, İsmailağa, Sakıt-I, Soğancı, İri bitirgen, Hacıkız, Çekirge-52, İmrahor, Şalak (Aprikoz), Karacabey ve Hasanbey) kullanmıştır. Sterilizasyon işlemi için tohumlar %70’lik alkol ile 45 saniye boyunca ön sterilizasyona tabi tutulmuş ve steril saf su ile çalkalanmıştır. Daha sonra tohumlar 15 dk. boyunca %5’lik NaOCl (Sodyum Hipoklorit % 53-Axion) içinde yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve ardından 3 defa 5’er dk. steril saf su ile durulanmıştır. Tohum kabuğunun daha rahat soyulması ve embriyoların daha kolay ayrılması için tohumlar 1 saat boyunca steril saf su içerisinde beklemeye bırakılmıştır. Böylece kayıslardan *in vitro* şartlarda embriyolar izole edilip 1 mg L<sup>-1</sup> BAP ile desteklenen MS ve WPM besiyerlerinde kültüre alınmıştır. Ekimden 14 sonra çimlenme



oranı, sürgün uzunluğu, sürgün çapı, sürgün ağırlığı, kök uzunluğu ve kök ağırlığı ölçülmüştür. Embriyo çimlenme oranları MS besiyerinde Tokaloğlu, Kabaası ve Çekirge-52 çeşitlerinde; WPM besiyerinde ise Tokaloğlu ve Hacıhaliloğlu çeşitlerinde % 100 olarak elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu her iki besiyerinde de en iyi sonucu Hacıhaliloğlu çeşidinde gerçekleşmiş ve sırasıyla 11,86 mm (WPM) ve 11,56 mm (MS) olarak ölçülmüştür. Kök uzunluğu bakımından her iki besiyerinde de en iyi sonucu Karacabey çeşidi vermiştir ve sırasıyla WPM besiyerinde 14,48 mm MS besiyerinde ise 15,79 mm olarak ölçülmüştür.

Yıldırım vd., (2011a), Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinin tek boğum, sürgün ucu ve tohum gibi eksplantlarında yüzey sterilizasyon optimizasyon çalışması yapmışlardır. Kültür besiyeri olarak MS ortamı kullanılmıştır. Sterilizasyon için NaOCl (Axion %53)'in farklı konsantrasyonları (% 0,5, 10, 15 ve 20) ve en iyi sonuç veren NaOCl konsantrasyonunda farklı çalkalama sürelerinin (5, 10, 15, 20 ve 30 dk.) etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak sürgün uçlarının sterilizasyonu için 15 dk. %10'luk NaOCl içerisinde, tek boğum eksplantların sterilizasyonu için 10 dak. %5'lik NaOCl içerisinde, tohumların sterilizasyonu için 15 dk. %5'lik NaOCl içerisinde bekletmenin yüzey sterilizasyonunun optimizasyonu için uygun olacağı tespit edilmiştir.

Yıldırım vd., (2011b), Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde *in vitro* proliferasyon, köklendirilme ve aklimatizasyon çalışması yapmışlardır. Temel besiyeri olarak MS ortamı kullanılmıştır ve TDZ, BA ve kinetin (Kin) gibi sitokininlerin ayrı ayrı ve BA'nin farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Sürgün proliferasyonu için 1 mg L<sup>-1</sup> BA en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir. Sürgün sayısı bakımından en yüksek değer 3,42±0,19 ile, 2,0 mg L<sup>-1</sup> BA içeren besiyerinden elde edilmiştir. En iyi köklenme oranı MS besiyerine ilave edilmiş 2,0 mg L<sup>-1</sup> IBA ile elde edilmiştir. Elde edilen bitkiler başarılı bir şekilde aklimatizasyonu yapılmıştır.

Mante vd., (1989), *P. domestica* L. ve *P. cerasus* L. olgun tohumun, *P. persica* L. ise olgunlaşmamış tohumun kotiledonlarının proksimal kısmından (embriyonik eksen çıkarılmış) bitki rejenerasyon çalışması yapmışlardır. Çalışmada 1,1-2,75 mg L<sup>-1</sup> TDZ ve 0-0,5 mg L<sup>-1</sup> IBA ile desteklenmiş MS besiyeri kullanılmıştır. Sterilizasyon işlemi için

tohumların endokarpı kırılmış, kotiledonları ayrılmış ve embriyonik eksen çıkarılmıştır. Tohumlar 5 dk. boyunca akan musluk altında yıkanmıştır. 12-15 dk. %0,5 sodyum hipoklorit (birkaç damla %1 Triton x 100 ile %10 ticari ağartıcı) ile dezenfekte edilmiştir. Dezenfekte edildikten sonra üç kere steril saf su ile durulanmıştır. Dezenfekte edilen tohumlar gece boyunca steril saf suda bekletilmiştir. Sürgün rejenerasyonunun en iyi olduğu ortam en yüksek TDZ konsantrasyonuyla birlikte 0,5 mg L<sup>-1</sup> IBA'nın kullanıldığıdır. Elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için ise 0,5-1 mg L<sup>-1</sup> IBA ile destekli ½ MS besiyeri kullanılarak aklimatizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Schmidt ve Ketzel, (1996), kiraz ıslah çalışmasında bazı hibrid çeşitlere ait olgun tohumların *in vitro* çimlendirilmesi ile bitki üretimi gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Sürgün eldesi için tohumlar 2 mg L<sup>-1</sup> BA ve 1 mg L<sup>-1</sup> IAA ile destekli MS besiyerine ekilmiş ve ekimden 2 hafta sonra ilk sürgünler elde edilmiştir. Elde edilen sürgünlerin uzaması için 0,1 mg L<sup>-1</sup> NAA ve 0,5 mg L<sup>-1</sup> BA ile destekli MS besiyerine aktarıldıktan 3-4 hafta sonra köklenmesi için 0,5 mg L<sup>-1</sup> NAA ile destekli ½ MS besiyerine aktarılmıştır. Kullanılan tohumların olgunlaşma oranı yüksek olduğu için rejenerasyon oranı yüksek bulunmuştur.

Hokanson ve Pooler, (2000), sekiz farklı süs kirazının olgun tohumlarından kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu çalışması yapmışlardır. Çalışmada embriyonun farklı bölümleri (kotiledon ve hipokotil) ve farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (BA, 2,4-D, IBA, NAA ve TDZ) kullanılmıştır. Sterilizasyon işlemi için, endokarp kırılmadan önce tohumlar 30 dk. boyunca %2,1 NaOCl içinde bekletilmiştir ve üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Endokarplar kırıldıktan sonra, tohumlar 1 dk. süreyle %70 etanolde bekletilmiştir, daha sonra %0,01 Tween-20 ile %0,8 NaOCl kombinasyonlu çözeltiliye aktarılıp 30 dk. boyunca bekletilmiştir. Tekrar üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyonun ardından tohumlar, gece boyunca steril saf su içerisinde bekletilmiştir. Sürgün oluşturma oranları çeşitlere göre farklılık göstermiş olup, *P. virginiana* ve *P. serrula* türünden gelen embriyoların yaklaşık %20 ile %50'si ve *P. maackii* türünün embriyolarının %5 ile %30'u sürgün üretmiştir. Diğer taksonların sürgün üretmediği bildirilmiştir.

Aktürk, (2009), *P. avium* L. bitkisinin tomurcuk ve tohum eksplantlarından *in vitro* mikroçoğaltım çalışması yapmıştır. Tomurcuk (25 dk.) ve tohumların (20 dk.) yüzey sterilizasyonu için %15'lik NaOCl kullanılmıştır. Tomurcuklar için en uygun kültür

başlatma dönemi Ocak-Mart ayları arası olduğu belirtilmiştir. Tomurcuklar için kültür başlatma çalışmasında modifiye edilmiş MS ortamına 0,5 mg L<sup>-1</sup>IAA+2 mg L<sup>-1</sup> BAP veya 2 mg L<sup>-1</sup> BAP ilavesi ile %95'in üzerinde başarı sağlanmıştır. Tohumdan kültür başlatma çalışması için enine bölünerek embriyonik ucun kültüre alınması ile daha başarılı bir sonuca ulaşılmıştır. Tohumdan *in vitro* çimlendirme için besiyerine herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisinin ilavesinin gerekmediği bildirilmiştir. Sürgün çoğaltım çalışmasında; farklı besiyerleri (MS, WPM, QL, SH), farklı sitokinler ve konsantrasyonlarının (BAP, TDZ, Kin), GA<sub>3</sub> ve floroglukinol'un etkileri incelenmiştir. Tomurcuklardan elde edilen sürgün çoğaltımı için en iyi sonucu modifiye edilmiş MS besiyerine 2,0 mg L<sup>-1</sup> BAP+0,3 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ilavesi ile elde edilmiştir. Sürgün sayısı %96±4, sürgün adet 1,7±0,4, ana sürgün uzunluğu 12,0±0,5 mm, yan sürgün uzunluğu 5,0±0,3 mm olarak bulunmuştur. Besiyerine floroglukinol eklemenin sürgün çoğaltımına herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür. Tohumlar için BAP konsantrasyonu arttıkça sürgün sayısının da arttığı görülmüştür. En yüksek sürgün sayısı 4,0 mg L<sup>-1</sup> BAP (5,4±0,7 adet) ilaveli besiyerinden elde edildiği belirtilmiştir. Tohum kaynaklı sürgünlerle yürütülen köklendirme çalışmasında IBA ve NAA'nın farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Başarı oranı %75 ile %95 arasında değişmekte olup en iyi IBA içeren ortamdan elde edilmiştir. Tomurcuklardan elde edilen sürgünlerde başarılı bir şekilde köklenmenin olmadığı gözlenmiştir.

Balla ve Brozik, (1996), hibrit kirazlarda embriyo kültürü yaparak *in vitro* çoğaltım çalışması yapmışlardır. Yüzey sterilizasyonu için tohumlar 15 dk. boyunca %9'lük NaOCl'de bekletilmiştir. Embriyolar modifiye edilmiş MS besiyerine aktarıldıktan sonra 120 gün boyunca 4 °C'de muhafaza edilmiş ve bu sürenin sonunda büyüme odasına alınmıştır. 11 farklı kombinasyona ait hibrit tohumlarda çimlenme oranı %3-36 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Schulze vd., (2017), olgunlaşmamış *P. lusitanica* tohumlarını *in vitro* çimlendirmek için bir doku kültürü protokolü geliştirmişlerdir. Çalışma, önce çimlenme için en iyi ortamın belirlenmesi ve ardından tohum tavlama sürecinin etkileri incelenerek gerçekleştirilmiştir. Birinci uygulamada, tohumlar polinasyondan 12 hafta (WAP)±1 hafta sonra toplanmıştır ve perikarp çıkarıldıktan sonra ortama yerleştirilmiştir. Her biri BA ve GA<sub>3</sub> içeren sekiz farklı MS (M1-M8) besiyeri denenmiştir. En uzun sürgünler M4 besiyerinde (1,45 mM GA<sub>3</sub>, 6

mM BA ve 30 g L<sup>-1</sup> sükröz) ve ardından M1 besiyerinde (0 mM GA<sub>3</sub>, 3 mM BA ve 30 g L<sup>-1</sup> sükröz) oluşmuştur. Radikül ve sürgün çıkışı, katlama işleminden sonra M1, M3 ve M4 için %90'dan fazla olmuştur. İkinci uygulama ise M1, soğuk katlama ve soğuk katlama olmadan 6, 9 ve 12 WAP'de kök ve sürgün oluşumunu test etmek için kullanılmıştır. Katlama işlemi olmadan 6 WAP'da sadece kallus gelişimi görülmüştür. Soğuk katlama işlemi 12 WAP grubunda sürgün oluşumunu %4'ten %28'e çıkardı ve bu da sürgün çıkması için kritik görülmüştür. Kotiledonlar tohumda tutulursa, *in vitro* çimlenme kullanılarak *P. lusitanica* türünün üremesini hızlandırmaya yönelik gelecekteki çabalar, 12 WAP'tan önce toplanmamalıdır ve M1 veya M4'te çimlenmeden önce soğuk katlama işleminin yapılması gerekmektedir.

Abdelsattar vd., (2020), *P. persica* L. türünün kotiledon eksplantından sürgün rejenerasyon çalışması yapmışlardır. Çalışmada MS ve WPM besiyerlerinin ve IBA, IAA, TDZ ve BA büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyonlarını kullanmışlardır. *P. persica* tohumlarının tohum kabuğu kırılmıştır, kabuktan çıkarılmıştır ve 25 dk. boyunca iki ile üç damla Tween 20 ile desteklenen %75 Clorox çözeltisine bekletilerek ön sterilize işlemine tabi tutulmuştur. Ardından üç kez steril saf su içinde 5 dk. durulanmıştır. Daha sonra, sterilize edilmiş tohumların, uyku halini kırmak için 17 °C'de 60 saat boyunca steril saf su içinde inkübe edildi. Her 12 saatte bir suyu değiştirerek testanın kolay çıkarılması için sağlandı. Tohumlar ekim işleminden önce tekrar steril edilmiştir. IAA ile kombine edilmiş TDZ, %70 ile en yüksek sürgün rejenerasyon yüzdesini ortaya çıkarmıştır. Bunu %66'lık bir sürgün rejenerasyon oranı ile BA ve IAA kombinasyonu izlemiştir.

Carmona ve Petri, (2020), *Prunus* anaçlarının olgun tohumlarından hipokotil ve kotiledon eksplantlarından etkili bir rejenerasyon prosedürü geliştirmişlerdir. Çalışmada *P. cerasifera* türünün dört genotipi ('Adara', 'Ademir', 'Myrobolan B' ve 'Myrobalan 29C') ve *P. insititia* türünün bir genotipi (Pixi) kullanılmıştır. Tohumların dezenfeksiyonu için, endokarp kırılmıştır ve tohumlar, 20 dk. boyunca %20 ticari çamaşır suyu (ticari çamaşır suyu= % 6,15 sodyum hipoklorit) ve %0,02 Tween-20 çözeltisi içerisinde bekletilmiştir ve üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Dezenfekte edilmiş tohumlar, 4 °C'de gece boyunca steril saf suda bekletilmiştir. Temel kültür ortamı olarak MS besiyeri kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicileri ise TDZ, IBA, BAP, 2,4-D ve NAA'dir. 9,05 µM 2,4-D her iki tür

eksplanttan gelen adventif organogenezi önemli ölçüde uyarmıştır. Hipokotil bölümlerinden elde edilen en iyi rejenerasyon oranları "Ademir", "Adara", "Myrobalan B", "Myrobalan 29C" ve "Pixi" için sırasıyla %16,28, %31,25, %13,79, %46,86 ve %53,03'dür. Kotiledonlardan elde edilen en iyi rejenerasyon oranları, "Ademir", "Adara", "Myrobalan B", "Myrobalan 29C" ve "Pixi" için sırasıyla %60,00, %51,61, %42,86, %75,00, ve %90,48'dir.

### 2.3. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyveler ile İlgili Yapılan Tuzluluk Stresi Çalışmaları

Rieger, (2001), Kuzey Amerika'da strese yatkın habitatlara özgü dört Prunus türü (*P. andersonii* Gray, *P. maritima* Marsh., *P. mexicana* Wats., *P. havardii* (Wight) Mason) ve şeftali (*P. persica*) anacı 'Nemaguard'a göre Na<sup>+</sup> veya Cl<sup>-</sup> iyonlarını tolere etme yetenekleri açısından değerlendirmiştir. Hidroponik büyüme koşulları kullanılarak bir serada 8 haftalık bir deney gerçekleştirilmiştir ve her türün besin çözeltisine 50 mM NaCl eklenmiştir. Kök, gövde ve toplam biyokütle, *P. persica*, *P. maritima* ve *P. mexicana* için yaklaşık %30-50 azalırken *P. andersonii* ve *P. havardii* etkilenmemiştir. Bununla birlikte, tuz stresine yanıt olarak beş türün tümü için yaprak biyokütlesi azalmıştır. Yaprak hasarı için yapılan çalışmada *P. maritima* türünün yapraklarında *P. persica* ve *P. mexicana* türünden daha yüksek Na<sup>+</sup> veya Cl<sup>-</sup> iyon içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Beş tür arasında köklerin Na<sup>+</sup> veya Cl<sup>-</sup> iyon tolerans yeteneklerinde hiçbir fark bulunmamıştır. Yapılan çalışmada *P. maritima* türü incelenen diğer türlere göre yaprakta Na<sup>+</sup> veya Cl<sup>-</sup> toleransını en iyi gösteren tür olmuştur.

Wang vd., (2016), dört *P. maritima* genotipi (B0, B1, B3 ve B5), *P. salicina* Lindl., *P. persica* (L.) Batsch. ve *P. cerasifera* Ehrh. içeren yedi Prunus türünün fotosentetik ve gaz değişim özellikleri ile tuz stresi altında göreceli tuz toleransları değerlendirilmiştir. Bir yıllık fideler, 30 gün boyunca 100 mM NaCl çözeltisi ile muamele edilirken, yaprağın çeşitli fizyolojik indeksleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, yedi kayısı bitkisinin net fotosentez hızının (PN), stomatal iletkenliğin (GS) ve terleme hızının (TR) tuz stresi altında azaldığını, ancak bu bitkiler arasında her birinin etkilendiği boyutla ilgili farklılıklar olduğunu göstermiştir. Örneğin, PN'nin azalma oranı B1 (%27,84)<B5(%40,03) <*P. persica* (%52,99)<B3 (%55,81) <*P. salicina* (%74,76)<B0 (%84,01)< *P. cerasifera* (%86,93) olarak

sıralanmıştır. Tuz stresi altında, dört *P. maritima* genotipinin hücreler arası CO<sub>2</sub> konsantrasyonu (Ci) azalırken (B1<B5<B3<B0) diğerlerinde artmıştır (*P. persica*>*P. cerasifera*>*P. salicina*). Ayrıca, tuz stresi altında dört *P. maritima* genotipinin su kullanım verimliliği (WUE) artarken diğerleri azalmıştır. Artış oranı B0>B3>B5>B1, düşüş oranı ise *P. cerasifera*<*P. salicina*<*P. persica* olarak sıralanmıştır. Dört Prunus türünün tuz stresi altındaki fotosentetik kapasitesinin *P. maritima*>*P. persica*>*P. salicina*>*P. cerasifera* olarak, dört *P. maritima* genotipinin ise B1>B5>B3>B0 olarak sınıflandırılabilceği bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucu *P. maritima* türünün diğer üç Prunus türünden daha iyi tuz toleransına sahip olduğunu ve dört *P. maritima* genotipi arasında B1 ve B5'in daha iyi tuz toleransına sahip olduğunu göstermektedir.

Eraslan vd., (2016), bu çalışmada, üç farklı kiraz anacının; Colt (*P. avium* x *P. pseudocerasus*), Maxma (*P. mahaleb* x *P. avium*) ve Gisela 5 (*P. cerasus* x *P. avium*) tuz stresine tolerans mekanizmaları *in vitro* koşullar altında araştırılmıştır. *In vitro* çalışmada MS besiyeri kullanılmış ve ortama 0, 25 ve 50 mM NaCl eklenmiştir. Anaçlarda; sürgün gelişimi, membran geçirgenliği (MG), lipid peroksidasyonu (MDA), prolin içeriği, toplam antioksidan aktivitesi (TAA), toplam klorofil içeriği, peroksidaz (POX, EC 1.11.1.7) ve katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) antioksidan enzim izoformları ile Na ve Cl konsantrasyonları belirlenmiştir. Tuz stresi anaçların toplam klorofil içeriğini ve sürgün gelişimini kontrole göre azaltırken; MDA içeriğini, TAA, MG ve prolin içeriğini artırdığını gözlenmiştir. Stres koşullarında sürgün POX enzim aktivitesinin arttığı ve üç farklı POX izoformunun elde edildiği gözlenmiştir. Maxma anacının POX aktivitesi diğerlerine göre daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Anaçların CAT izoformlarında belirgin bir farklılık elde edilmemiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, NaCl stresine Maxma anacının hassas, Colt anacının orta derecede hassas ve Gisela 5 anacının da dayanıklı olduğu sonucuna varılmıştır.

Sorkheh vd., (2012), sekiz yabani badem türünde tuz toleransı ile ilişkili olan antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikleri ve bazı metabolitlerin seviyelerinin değişimlerini içermektedir. Tüm türler kontrol, 40, 80 ve 120 mM NaCl'e maruz bırakılmıştır ve sonuçlar 40 gün sonra değerlendirilmiştir. Sekiz badem türünün tuz stresli ve stressiz bitkilerinin yapraklarında, bitki taze biyokütlesi,  $\alpha$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  tokoferol, toplam çözünür proteinler, malondialdehit (MDAeq), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, toplam fenolikler ve aktiviteler, süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) analizleri yapılmıştır. Tüm türlerde

tuz stresi, SOD ve POX aktivitelerini, toplam fenolik ve  $\gamma$ - $\delta$  tokoferol seviyelerini önemli ölçüde artırmıştır. Yüksek tuz stresi seviyeleri, toplam çözüner protein, MDA ve CAT aktivitesini düşürürken, yaprakda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğini önemli ölçüde etkilememiştir. Regresyon analizi, tuz seviyeleri ile toplam çözüner proteinler, CAT,  $\gamma$  tokoferol, MDAeq, SOD ve POX arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir. Temel bileşen analizi, badem türlerini tuzlu koşullara tolerans / duyarlılık derecelerine göre ayırt etmiştir: *P. reuteri* Boiss. et Bushe ve *P. glauca* (Browicz) A.E. Murray tuza toleranslı, *P. lycioides* Spach ve *P. scoparia* Spach orta derecede toleranslı ve *P. communis* (L.) Archang, *P. eleagnifolia* (Spach) Fritsch, *P. arabica* (Olivier) Neikle ve *P. orientalis* Mill. (syn. *P. argentea* Lam.) tuza duyarlı olarak sıralanmıştır. Sonuçların, badem yetiştiriciliğinde anaç olarak kullanılacak tuza toleranslı genotiplerin seçilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Ochatt ve Power, (1989), Colt kirazı (*P. avium* x *pseudocerasus*) kallus kültürlerini, yaprak protoplastlarından, kök hücre süspansiyon kültürlerinin protoplastlarından veya yaprak ve kök dokularının doğrudan kültüründen elde etmişlerdir. 25,50, 100 veya 200 mN (milinormal) NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KCl ve izo-ozmotik (NaCl içeren) mannitol konsantrasyonları içeren bazal proliferasyon ortamında kültürlenmiş kallusların hayatta kalması oranı %1 ile %15 arasında değişmiştir. Aynı ortamda altı kez alt kültür yapıldıktan sonra hayatta kalan hücre hatları bazal proliferasyon ortamında ve NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve mannitol ile desteklenmiş bazal proliferasyon ortamında kültüre alınmıştır. Çalışmada tuz ve mannitole toleranslı hücre hatları, seçilmemiş hücre hatlarından daha küçük hücrelere sahip olduğu, daha hızlı büyüdüğü, kallus ve hücrelerin hayatta kalma oranlarının çok yüksek olduğu bildirilmiştir. Bir maddeye (sodyum tuzu, potasyum tuzu veya mannitol) tolerans için seçilen hücre hatları, başka bir maddeye minimum tolerans göstermiştir. Bununla birlikte, bitkiler tuza veya mannitole toleranslı kallustan yeniden üretildiğinde ve bunlardan türetilen yeni kültürler olduğunda, yeni kültürler tüm tuzlara ve mannitole tolerans gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Chatzissavvidis vd., (2008), CAB-6P (*P. cerasus* L.) anacında tuzluluğun enzimik ve enzimik olmayan antioksidan aktivitesine, sürgün proliferasyonuna ve besin birikimine etkisi *in vitro* kültürlerde incelenmiştir. Modifiye edilmiş bir MS ortamına üç konsantrasyon (0, 30 ve 60 mM) NaCl ve CaCl<sub>2</sub> ilave edilmiştir. Ayrıca sürgün gelişimi için besiyeri ortamı 0,6 mg L<sup>-1</sup> BA, 0,2 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ve 0,05 mg L<sup>-1</sup> IBA ile desteklenmiştir. POX ve CAT

aktivitelerine poliakrilamid jel elektroforezinde bakılmıştır. Yapraklardaki POX ve anyonik izoformlarının sayısı 30 mM CaCl<sub>2</sub> ve 60 mM NaCl veya CaCl<sub>2</sub> altında artmıştır. Öte yandan, 0'dan 60 mM CaCl<sub>2</sub>'ye yükselen tuzluluk, yapraklarda katalaz aktivitesinin azalmasına ve ardından yapraklarda tespit edilen tek katalaz izoformunun (60 mM CaCl<sub>2</sub>) ortadan kaybolmasına neden olmuştur. NaCl ile muamele edilen eksplantların gövdelerinde POX aktivitesi azalmıştır. Sonuçlar, CAB-6P eksplantlarının gövdelerinin ve yapraklarının, kullanılan tuz formuna bağlı olarak değişken antioksidan savunma mekanizması geliştirdiğini göstermektedir.

Sevgin, (2018), Güneydoğu Anadolu'dan seçilen üç *P. microcarpa* genotipinin (G1, G2 ve G3) *in vitro* tuzluluk toleransı bazı standart anaçlarla (MaxMa 14, Gisela 5, Pixy, SL 64 ve Garnem) karşılaştırılarak incelenmiştir. Anaçların tuzluluk toleransını belirlemek için, eksplantlar *in vitro* olarak 0, 50, 100 ve 150 mM NaCl içeren Nas ve Read Medium (NRM) besiyerinde kültüre alınmıştır. Tuzluluk uygulamasının ardından dört hafta sonra sürgün büyümesi, klorofil a, klorofil b, prolin, lipid peroksidasyonu (MDA), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) analiz edilmiştir. Tuzluluk stresi, *in vitro* olarak tüm genotiplerin büyümesini ve gelişmesini inhibe etmiştir ve genotiplere bağlı olarak, tuzluluk stresine tepkide farklılık olmuştur. Tuzluluk stresi altında özellikle 100 ve 150 mM NaCl düzeyinde Prolin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tüm genotiplerde artmıştır. *P. mikrocarpa*, özellikle G2 genotipleri, test edilen diğer türlerin genotiplerine kıyasla tuzluluk stresine daha toleranslı görünmüştür. Bu çalışmada test edilen Türkiye menşeli *P. microcarpa* genotipleri, meyve kültürüne uygun topraklarda, hafif tuzlu topraklarda ve sulama suyunun acı olduğu durumlarda daha az test edilen diğer standart anaçlar kadar güvenli potansiyel anaç olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Arıcı ve Eraslan, (2012), Colt (*P. avium* X *P. pseudocerasus*) kiraz anacınının *in vitro* koşullar altında tuz (NaCl) stresine karşı reaksiyonları araştırılmıştır. Eksplant olarak sürgün ucu kullanılmıştır ve eksplantlar farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren (0, 30, 50, 100, 150 mM) MS besiyerinde kültüre alınmıştır. Sürgünlerin sayısı ve uzunluğu 0-30 mM NaCl içeren ortam diğer uygulamalara göre artış gösterdiği gözlenmiştir. Öte yandan 150 mM NaCl içeren besiyerindeki sürgünlerde nekrozlar meydana gelmiştir, 50-100 mM NaCl içeren MS besiyerindeki sürgün uçlarında sararmaların oluştuğu tespit edilmiştir. NaCl konsantrasyonu arttıkça bitkilerde Na miktarının arttığı ve sürgün sayısı, uzunluğu, klorofil miktarı, yaş ağırlığı, P, Mg, Ca, K, Fe, Mn, Zn ve Cu içeriklerinin azaldığı tespit edilmiştir.



Ye vd., (2016), NaCl stresi altında şeftali (*P. persica* L. Batsch) fidelerinin fizyolojik özelliklerini 5-aminolevulinik asit (ALA) ile tolere etmeye çalışmışlardır. Eksojen ALA ile muamele edilmiş NaCl stresli şeftali fidelerinin büyüme ve fizyolojik parametreleri incelenmiştir; bu parametreler arasında sürgün ve kök kuru ağırlığı, yaprak alanı, bitki boyu, gövde çapı, hücreler arası CO<sub>2</sub> konsantrasyonu (C<sub>i</sub>), stomatal iletkenlik (G<sub>s</sub>), net fotosentetik oran (P<sub>n</sub>), terleme hızı (Tr), zar geçirgenliği ve kök canlılığı bulunmaktadır. Ayrıca klorofil, prolin, çözünür şekerler, çözünür proteinler, malondialdehit (MDA) içerikleri ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 100 mM NaCl uygulanan şeftali fidelerinin fizyolojik özelliklerinin inhibe edildiğini göstermiştir. 100 mM NaCl ve 200 mg L<sup>-1</sup> ALA ile muamele edilen şeftali fidelerinin büyüme parametrelerinde (sürgün ve kök kuru ağırlığı, yaprak alanı, bitki boyu, gövde çapı, hücreler arası CO<sub>2</sub> konsantrasyonu (C<sub>i</sub>), stomatal iletkenlik (G<sub>s</sub>), net fotosentetik oran (P<sub>n</sub>), terleme hızı (Tr), zar geçirgenliği ve kök canlılığı) iyileşme görülmüştür. ALA uygulaması klorofillerin, çözünür şekerlerin, çözünür proteinlerin ve prolin içeriklerini arttırdığı, ancak membran geçirgenliğini ve MDA içeriğini azalttığını göstermektedir. Dahası, ALA uygulaması SOD, POX ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde artırdı. Bu bulgular, eksojen ALA uygulamasının, fotokimyasal verimliliği, ozmotik içeriği ve antioksidan enzim aktivitesini artırarak şeftali fidelerinin büyümesini iyileştirebileceğini ve NaCl stresine toleransın artacağını göstermektedir.

Ertürk vd., (2007), tatlı kiraz anacı Gisela 5'in (*P. cerasus* × *P. canescens*) MS besiyeri ortamındaki artan NaCl konsantrasyonlarına (0, 50, 100 ve 150 mM) *in vitro* tepkisi incelenmiştir. Tuz uygulaması ile sürgünlerde büyüme ve klorofil içeriği azalırken, su içeriğinde hiçbir değişim olmadığı gözlenmiştir. SOD, APX, POX, CAT ve GR gibi antioksidan enzimlerde de önemli ölçüde yükselme olduğu gözlenmiştir. Cl konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmemekle birlikte, sürgünlerin Na konsantrasyonu önemli ölçüde artmış ve NaCl uygulamaları K, Ca ve Mg beslenmesini bozmuş ve K: Na ve Na: Ca oranlarında dengesizliği tetiklediği bulunmuştur.

## 2.4. Duman Suyu ve Karrikin ile İlgili Literatürler

### 2.4.1. Duman Suyu Eldesi ile İlgili Çalışmalar

Coons vd., (2014), dumandan gelen suda çözünür bileşiklerin tohum çimlenmesi üzerindeki etkisini araştırmak için bitki materyalinden duman çözeltileri üretmek için verimli ve ucuz bir sistem geliştirilmiştir. DS, bir çeker ocak içerisinde 300 mL su içeren bir şişeye yanmaz hortum ile arıcı körüğü tutturularak 100-200 g kurutulmuş bitkisel materyalin yakılması ile elde edilmiştir. Dumanın suda çözünmesi için cam şişe vakumlu su aspiratörüne bağlanmıştır. Diğer duman solüsyonu hazırlama sistemleriyle karşılaştırıldığında, bu sistemin montajı ve çalıştırması kolay, yapımı ucuz ve küçük bir kapalı alanda istenen türlerden duman solüsyonları üretmede etkili olduğu düşünülmektedir.

Van Staden vd., (2004), *Passerina vulgaris* Thoday ve *Themeda triandra* L. bitkileri 20 L kapasiteli bir kaptaki hortum vakum sistemi ile yakılarak çıkan dumanın 2 L su bulunan cam şişe içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Konsantre DS diklorometan ile kapsamlı bir şekilde ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 6 kez %1 (w/v) sulu NaOH ile yıkanmıştır, ardından H<sub>2</sub>O ile pH'ı nötr olana kadar 3 yıkama yapılmıştır. Ekstrakte edilen DS vakumlu sıvı kromatografisine tabi tutularak ayrışması sağlanmıştır. Daha sonra aktif bileşiklerin ayrılması için HPLC ile fraksiyonlar ayrılmıştır. Ayrılan fraksiyonlar GS-MS ile daha fazla saflaştırılarak marul tohumlarında çimlenme testi yapılmıştır. Kontrol (su uygulaması), ham DS, ekstrakte edilen DS ve HPLC işleminden sonra GC-MS ile saflaştırılan DS'den oluşan bir deney grubu kurulmuştur. En fazla çimlenme HPLC işleminden sonra GC-MS ile saflaştırılan DS'den ( $10^{-7}$ ) elde edilmiştir. Ham DS ( $1:10^3$ ) ve ekstrakte edilen DS ( $1:10^3$ ) arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kontrol grubunda çimlenme diğer gruplara göre düşük bulunmuştur.

Flematti vd., (2009), DS elde etmek için vakumlu bir sistemde yulaf samanı yakılmıştır. Elde edilen DS diklorometan ile ekstre edilmiştir ve birleşik organik ekstrakt, asidik bileşiklerini uzaklaştırmak için 1 M NaOH ile yıkanmıştır. Elde edilen organik özüt, tuz ile yıkanmış, kurutulmuş (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), süzölmüş ve nötr fraksiyon verecek şekilde vakumla buharlaştırılmıştır. Daha sonra aktif bileşiklerin ayrılması için HPLC ile fraksiyonlar ayrılmıştır. Ayrılan fraksiyonlar GS-MS ile daha fazla saflaştırılmıştır. *Solanum orbiculatum* Poir. tohumlarında çimlenme testi için elde edilen saf fraksiyonlar 1:10 seyreltme ve

seyreltilmemiş olarak denenmiştir. Her iki grupta da 19., 20. ve 25. fraksiyonlar çimlenmeyi daha fazla teşvik ettiği bulunmuştur. Bu fraksiyon bölgelerinde çimlenmeyi teşvik edici butenolid bileşiklerinin daha fazla bulunduğu düşünülmektedir.

Flematti vd., (2011), çalışmada dumanın içerisinde var olan ve çimlenmeyi teşvik edici olan D-glucose, D-xylose ve L-glycine ticari olarak alınıp maddeler yakılarak vakumlu bir sistem ile dumanlarının suda çözünmesi sağlanmıştır. Karrikinolide (KAR1) eldesi için şu yöntem kullanılmıştır; asetik anhidrit içindeki sodyum asetat ve trifenilfosfin karışımı 5 dk. boyunca 140 °C'de ısıtılmıştır. Asetik anhidrit ile seyreltilmiş bir çözelti, 5 dk. boyunca ısıtılmış karışıma damla damla ilave edilmiştir. Karışım 30 dk. daha ısıtılmış ve soğumaya bırakılmıştır. Sulu çözelti süzümüştür ve diklorometan ile ekstrakte edilmiştir. Organik ekstrakt, 1 M NaHCO<sub>3</sub> ile yıkanmış, kurutulmuş, süzümüştür ve buharlaştırılmıştır (Flematti vd., 2005). D-glucose, D-xylose ve L-glycine maddelerinden elde edilen DS içerisindeki aktif bileşiklerin ayrılması için HPLC ile fraksiyonlar ayrılmıştır. Ayrılan fraksiyonlar GS-MS ile daha fazla saflaştırılmıştır. *Solanum orbiculatum* Poir. tohumlarında çimlenme testi için kontrol (saf su içeren), KAR 1 (100 ppb), saflaştırılmamış DS (0 (seyreltilmemiş), 1:10 ve 1:100 seyreltme) ve HPLC/GC-MS ile saflaştırılmış DS (0 (seyreltilmemiş), 1:10 ve 1:100 seyreltme) deney grupları kullanılmıştır. Sonuçlar, seyreltilmemiş ekstraktların her birinin çimlenmeyi engellediğini, kontrole göre 1:100 seyreltme seviyesinde tüm ekstraktların çimlenmeyi uyardığını göstermektedir. 1:10 seyreltme seviyesinde çimlenme sırası ile, D-ksiloz + L-glisin > D-ksiloz > D-glikoz olmuştur. HPLC/GC-MS ile saflaştırılmış DS deney gruplarında ise tüm örneklerin 1:10 ve 1:100 seyreltme seviyelerinde çimlenmeyi desteklediği gösterilmiştir. Yine seyreltilmemiş ekstraktların her birinin çimlenmeyi engellediği görülmüştür.

Gupta vd., (2019), DS üretmek, bunun standardizasyonunu ve ana aktif biyomoleküllerin miktarını belirlemek için düşük maliyetli verimli bir cihaz geliştirmişlerdir. Bunun için *Themeda triandra* Forssk, *Heteropogon contortus* Beauv. ex Roemer ve J. A. Schultes, *Tristachya leucothrix* Trin. ex Nees, *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf, *Aristida junciformis* Trin. ve Rupr ve *Cymbopogon validus* Stapf ex Burt Davy otlarını (26 kg) geliştirmiş oldukları bir sistem ile yakmış (160-200 °C) ve dumanın suda (26 L) çözünmesini sağlamışlardır. Hazırlanan ham duman suyu (SW), damıtılmış su (SW: DW) ile 75:25, 50:50 ve 25:75 (h/h)'ye kadar seyreltilmiştir ve bu alt dilüsyonlar ayrıca 1:500'e

seyreltilmiştir; 1:1000; 1:1500; 1:2000; 1:2500; 1:3000 ve 1:3500 (v/v). SW'nin standardizasyonu için, en iyi çalışma konsantrasyonunu belirlemek için marul tohumları (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids) ile test edilmiştir. SW'nin 25:75 (h/h) alt-dilüsyonundan 1:2500 (v/v) oranı, karanlıkta marul tohumlarını en iyi çimlendiren konsantrasyon olmuştur ve sadece %7-10'luk su kontrolüne karşı %91 çimlenme elde edilmiştir. Duman suyu ne kadar fazla seyreltilirse içerisinde bulunan çimlenme inhibitörünün (trimetilbütenolid, TMB) etkinliğinin azalıp daha fazla çimlenmeyi teşvik edeceği belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca karrikinolid 1, (KAR1) ve karrikinolide 2, (KAR2) ve çimlenme inhibitörünün de (trimetilbütenolid, TMB) miktarına bakılmıştır. Yeni tasarlanmış aparat ile hazırlanan duman sularında ve 1993 ve 1998 yıllarında hazırlanan duman sularında KAR1, KAR2 ve TMB'nin miktarlarına ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-elektrosprey pozitif iyonizasyon tandem kütle spektrometrisi (UHPLCESI(+)-MS/MS) cihazı ile bakılmıştır. Ham SW'de (2018) KAR1, KAR2 ve TMB seviyeleri sırasıyla  $11400 \pm 2300$  nmol L<sup>-1</sup>,  $19400 \pm 4200$  nmol L<sup>-1</sup> ve  $51500 \pm 5800$  nmol L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Ancak 1993 örneğinde KAR1, KAR2 ve TMB seviyeleri sırasıyla  $8,2 \pm 3,2$  nmol L<sup>-1</sup>,  $16,6 \pm 2,5$  nmol L<sup>-1</sup> ve  $1654,9 \pm 27,4$  nmol L<sup>-1</sup> iken, 1998 örneğinde  $32,5 \pm 1,4$  nmol L<sup>-1</sup>,  $28,9 \pm 4,1$  nmol L<sup>-1</sup> ve  $7659,9 \pm 492$  nmol L<sup>-1</sup>'dir. 2018 yılında üretilen SW'ye kıyasla 1993 ve 1998 yıllarındaki ham SW'deki düşük KAR1, KAR2 ve TMB seviyeleri, yeni tasarlanmış cihazdan hazırlanan SW'nin oldukça güçlü olduğunu yansıtmaktadır, bu da yeni duman su cihazının mevcut aktif bileşiklerin çözünmesinde daha etkili olduğunu göstermektedir.

Hrdlička vd., (2019), KAR analizi için farklı yıllarda hazırlanan altı tür ekstrakt kullanılmıştır. Bunlar; 1993 yılında 5 kg fynbos bitki örtüsü (SW1); 1998 yılında 5 kg *Passerina vulgaris* ve *T. triandra* otu (SW2), 1994 yılında 5 kg *T. triandra* otu (SW3), 1999 yılında özel bir aparatla hazırlanan 10 gr *T. triandra* otu (SW4); 2003 yılında 5 kg fynbos bitki örtüsü (SW5). Ayrıca üç ticari ürünün örnekleri de kullanılmıştır: 2003 yılında hazırlanan damıtılmış duman suyu konsantresi (SW6), Fire Grow™ (SW7) ve Super smoke plus (2004, SW8). Bu numuneler 10 °C'de saklanmıştır ve analizden önce 10 kat seyreltilmiştir. Bütün bu örneklerin miktarına UHPLC-ESI(+)-MS/MS cihazı ile bakılmıştır. KAR1 miktarı sırası ile SW6\_2003 ( $101,6 \pm 7,9$  nmol L<sup>-1</sup>), SW5\_2003 ( $74,4 \pm 3,7$  nmol L<sup>-1</sup>), SW3\_1994 ( $63,2 \pm 1,5$  nmol L<sup>-1</sup>), SW2\_1998 ( $32,5 \pm 1,4$  nmol L<sup>-1</sup>), SW1\_1993 ( $11,7 \pm 4,3$  nmol L<sup>-1</sup>) ve SW4\_1999 ( $9,4 \pm 0,4$  nmol L<sup>-1</sup>) bulunmuştur. KAR2 miktarı sırası ile SW3\_1994

(88,7±1,4 nmol L<sup>-1</sup>), SW5\_2003 (64,2±3,5 nmol L<sup>-1</sup>), SW2\_1998 (28,9±4,1 nmol L<sup>-1</sup>), SW6\_2003 (28,8±1,7 nmol L<sup>-1</sup>), SW1\_1993 (21,7±2,7 nmol L<sup>-1</sup>) ve SW4\_1999 (14,3±1,5 nmol L<sup>-1</sup>) bulunmuştur. İncelenen her iki ticari ekstrede (SW7 ve SW8) hiçbir KAR tespit edilmemiştir.

Kochanek vd., (2016), farklı bitkisel materyalleri, farklı süre ve sıcaklıkta yakarak biyokömür elde edilmiştir. Yeşil atıklar ile oluşturulan deney grupları; Tech A (300 kg) yavaş ısıl işlem (piroliz) 550 °C'de 40 dk., Tech B (250 kg) yavaş ısıl işlem 590 °C'de 28-29 dk. ve Tech C (600 kg) hızlı ısıl işlem, 600-660 °C'de 2,5 dk.'de bitkisel materyaller yakılmıştır. Şeker kamışı atıklarıyla oluşturulan deney grubunda; Tech C hızlı ısıl işlem (600 kg), 680-730 °C'de 2 dk. boyunca bitkisel materyaller yakılmıştır. Kağıt fabrikası atıkları ve talaştan oluşturulan deney grubu; Tech A yavaş ısıl işlem (20 L kapasiteli bir reaktörde yakılmıştır), 450 °C 40 dk. boyunca yakılmıştır. Elde edilen biyokömlerin KAR1 standartına karşı HPLC ve GC-MS işlemleri ile miktar tayini ve kimyasal karakterizasyonuna bakılmıştır. Yavaş ısıl işlem birimlerinden (Tech A ve B) elde edilen biyokömler, hızlı ısıl işlemde elde edilen biyokömlere kıyasla en az üç kat daha fazla KAR1 içermektedir (yavaş ısıl işlem yaklaşık 70-80 ng mL<sup>-1</sup>; hızlı ısıl işlem yaklaşık 6-20 ng mL<sup>-1</sup> KAR1). Tech C ünitesindeki daha sıcak ve daha hızlı ısıl işlem koşullarının KAR1'i uzaklaştırmış veya buharlaştırmış olabileceğini, daha soğuk ve daha yavaş Tech A ve B koşullarında ise daha fazlasının tutulduğu tahmin edilmektedir. >70 ng mL<sup>-1</sup> KAR1'e sahip biyokömür 'KAR1 bol' veya 'yüksek KAR1' biyokömleri olarak adlandırılmaktadır. Tech A (300 kg) ünitesinden gelen biyokömler, Tech A'nın 20 L kapasiteli reaktör versiyonundan gelen biyokömlerden en az yedi kat daha fazla KAR1 içerdiğinden ünitenin boyutu da KAR1'in tutulmasını etkilemektedir (büyük ünite, yaklaşık 80 ng mL<sup>-1</sup> KAR1; küçük ünite, yaklaşık 5-12 ng mL<sup>-1</sup> KAR1). Tech B tekniği ile üretilen DS'de 69±8,8 ng KAR1 mL<sup>-1</sup> (460 nM, n = 2) içermektedir. DS ortalama olarak 265 nM KAR1 içermektedir. Hızlı ısıl işlemde (Tech C) elde edilen her iki biyokömür, çok farklı hammadde kaynaklarından olmalarına rağmen yavaş ısıl işlemde (yeşil atıkları içeren Tech A ve B birimleri) elde edilenlere göre düşük KAR1 içeriğine sahiptir.

#### 2.4.2. Bitki Gelişimine Etkileri ile İlgili Çalışmalar

Kazancı, (2014), çalışmada DS'nin Akdeniz vejetasyonuna ait çok sayıda bitki türünün tohumlarının çimlenme oranlarını ve fide boylarını artırıp artırmadığına bakılmıştır. DS elde etmek için *Quercus coccifera* L. dal ve yaprakları metal kaplara konularak ağzı alüminyum folyo ile kapatılmış ve etüvde 30 dk. boyunca 190-195 °C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Sürenin sonunda alüminyum folyonun kenarlarından içerideki dumanı kaçırmadan 50 mL distile su eklenerek 10 dk. bekletilmiştir. Daha sonra süzülerek sıvı duman çözeltisi 24 saat boyunca tohumlara uygulanmıştır. Duman çözeltisi uygulaması sonucu çimlenen tohumlar 7 gün bekletilerek fide boyları ölçülmüştür. Çalışmada 76 taksonun yarısı DS'dan pozitif yönde etkilenmiştir. Lamiaceae familyasının üyelerinin çoğunun çimlenmesi DS uygulaması ile artmıştır. DS uygulamasından sonra sadece bir türün fide boyunda kontrole kıyasla bir artış olmuştur.

Çatav vd., (2018b), çalışmada Akdeniz Havzasında yayılış gösteren 37 türün çimlenme ve fide büyümesi üzerine DS, KAR1, mandelonitril (bir siyanohidrin analogu-MAN), potasyum nitrat ( $KNO_3$ ) ve gibberellik asitin etkisi değerlendirilmiştir. 21 türün çimlenme ve fide büyümesi, yangından türetilen kimyasalların en az biri tarafından arttırıldığını ortaya koymaktadır. DS çözeltisini saman ve filtre kağıdını yakarak elde etmişlerdir. Saman ve selülozdan türetilen DS çözeltilerinde çimlenme yüzdeleri yüksek oranda korelasyon göstermiştir. Genel olarak çimlenmeyi karrikinolid ve mandelonitril yüksek oranda uyarmıştır. Ama bu türden türe farklılık göstermiştir. İncelenen 33 türün üçü çimlenme bakımından gibberellik asit tarafından teşvik edilmiştir. KAR1+MAN kombinasyonu 11 türün ve  $KNO_3$  9 türün, çimlenmesini teşvik eden en etkili uygulamalar olmuştur.

Çatav vd., (2015), çalışmada Doğu Akdeniz Bölge'sinde yayılış gösteren 12 farklı türün DS ve nitrat uygulamasına karşı göstermiş oldukları çimlenme performansları değerlendirilmiştir. DS eldesi için *Pinus brutia* Ten. türünün iğneli yaprakları kullanılmıştır. 20 g yaprak örneği 195 °C'de 30 dk. boyunca cam şişe içinde fırında yakılmıştır. 10 dk. kala yanan yaprakların üzerine 50 mL steril saf su dökülmüştür. Bu şekilde DS'nin içeriğinde bulunan aktif bileşiklerin çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra bir cam şişenin içerisine filtre kağıdı ile süzdürülmüştür. DS uygulamasında *Daucus carota* L., *Onopordum caricum* L. ve

*Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach türlerinin çimlenme oranı kayda değer bir şekilde artmıştır fakat *Hypericum aviculariifolium* Jaup. uygulamadan negatif yönde etkilenmiştir. Nitrat uygulaması kontrole göre 5 türün çimlenmesinde önemli bir gelişme göstermiştir. Genel olarak DS ve nitrat uygulaması 12 türün 6'sının çimlenme oranını arttırmıştır.

Tavşanoğlu, (2011), bu çalışmada, *Cistus creticus* L. (Cistaceae) tohumlarının laboratuvar koşullarında ısı şoku ve DS'nin çimlenme davranışı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Tohumlar Muğla Bozburun yarımadasında bulunan uzun süre yanmamış *Pinus brutia* Ten. ormanından elde edilmiştir. Isıl işlemler 80, 100, 120 ve 150 °C' de beş dk. süreyle gerçekleştirilmiştir. DS uygulaması için tohumlar 24 saat sıvı duman solüsyonunda inkübe edilmiştir. Hem kuru hem de sulu kontroller sırasıyla ısı ve duman muameleleri için deneye dahil edilmiştir. Muamele edilmiş ve muamele edilmemiş tohumlar, bir substrat olarak agar içeren petri kaplarına ekilmiştir ve çimlenmeler deneyin sonuna kadar izlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 100, 120 ve 150 °C' lik ısı şoku çimlenme tepkisi üzerinde önemli uyarıcı etkilere sahipken, 80 °C ısı şoku ve DS'nin bir etkisi olmamıştır. Sonuçlar *C. creticus* popülasyonunun tohum çimlenmesinin orta ve yüksek ısı yoğunlukları tarafından uyarıldığını, ancak düşük ısı yoğunluğu ve duman tarafından uyarılmadığını göstermiştir.

Çatav vd., (2012), çalışmada Akdeniz Havza'sında bulunan 5 odunsu türün, farklı bitki türlerinden üretilen duman çözeltilerine karşı çimlenme tepkisi incelenmiştir. DS eldesi için *Pinus brutia* Ten., *Quercus infectoria* Olivier subsp. *boissieri* (Reut.) ve *Chrysopogon gryllus* (L.) Trin. subsp. *gryllus* bitkilerinin dal ve yaprak kısımları yakılmıştır. İncelenen 5 türden 2'si (*Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach ve *Satureja thymbra* L.), kontrole kıyasla DS uygulamasından sonra çimlenme yüzdesinde önemli artışlar gösterirken, kalan 3 (*Calicotome villosa* (Poir.) Link, *Cistus salviifolius* L. ve *Lavandula stoechas* L.) türde artış olmamıştır. Bununla birlikte, türlerin hiçbiri çimlenme oranında herhangi bir değişiklik göstermemiştir. Ayrıca, çeşitli bitkilerden üretilen duman çözeltileri, tüm türlerde çimlenme tepkisini (çimlenme yüzdesi ve oranı) etkilememiştir. Bu sonuçlar, farklı bitki türlerinden kaynaklanan dumanın çimlenme tepkisi üzerindeki etkisinin bölgeden bağımsız olarak küresel olarak benzer olduğunu teyit etmektedir.

Tavşanoğlu vd., (2017), nadir tek yıllık *Chaenorhinum rubrifolium* (Robill. ve Cast. ex Lam. ve DC.) Fourr. (Plantaginaceae) türünün çimlenme modelleri, laboratuvar ortamında karanlık ve fotoperiyod koşulları altında ısı şoku, DS, azotlu bileşikler, gibberellik asit, KAR1 ve mandelonitrile (bir siyanohidrin analogu, MAN) yanıt olarak incelenmiştir. Bu muamelelerin kombinasyonları da deneye dahil edilmiştir. DS uygulaması çeşitli konsantrasyonlarda (%100=1:1, %10=1:10 ve %1= 1:100) uygulanmıştır. DS elde etmek için *Quercus coccifera* L. dal ve yaprakları metal kaplara konularak ağzı alüminyum folyo ile kapatılmış ve etüvde 30 dk. boyunca 190-195°C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Sürenin sonunda alüminyum folyonun kenarlarından içerideki dumanı kaçırmadan 50 mL distile su eklenerek 10 dk. bekletilmiştir. Daha sonra süzülerek sıvı duman çözeltisi 24 saat boyunca tohumlara uygulanmıştır. Eppendorf tüplerindeki tohumlara 24 saat *C. rubrifolium* tohumlarındaki güçlü fizyolojik dormansi hali, ışık koşulları altında DS ve nitrat dahil olmak üzere yangınla ilgili birkaç çimlenme işaretiyle kısmen kırılmıştır. KAR1 ve MAN ayrıca çimlenmeyi de uyarmıştır ve çimlenmedeki en yüksek gelişme, ışık varlığında KAR1 işleminden elde edilmiştir. Isı şoku+DS ve KAR1+MAN kombinasyonları, sırasıyla ışık koşullarında çimlenme üzerinde pozitif sinerjik ve ek etkilere sahip olmuştur. Işık, çimlenmenin desteklenmesinde çok önemli bir rol oynamıştır. Sonuçlar, Akdeniz Havzasında tek yıllık bir tür olan *C. rubrifolium* için yangın ile ilgili birden fazla işaretin çimlenmeyi teşvik ettiğini göstermektedir.

Çatav vd., (2014), çalışmada Akdeniz Lamiaceae türlerinde dumanın çimlenmeyi artırdığı hipotezini test etmek için, yedi Doğu Akdeniz Lamiaceae taksonunda çeşitli konsantrasyonlarda (1:1, 1:10 ve 1:100) DS uygulamaları da dahil olmak üzere bir çimlenme deneyi gerçekleştirilmiştir. İncelenen taksonlardan altısı (*Lavandula stoechas* L., *Origanum onites* L., *Phlomis bourgaei* Boiss, *Stachys cretica* L. subsp. *smyrnaea*, *Satureja thymbra* L., *Teucrium lamiifolium* d'Urv ssp. *stachyophyllum*), kontrole kıyasla en az bir DS uygulamasında çimlenme yüzdesinde önemli artışlar göstermiştir. Ayrıca *L. stoechas*, *S. thymbra* ve *T. lamiifolium* ssp. *Stachyophyllum* türlerinden en az bir DS uygulamasında kontrole göre daha hızlı çimlenme göstermiştir. DS uygulamasından sonra çimlenme yüzdesinde önemli artışlar gösteren türlerden en az bir tek duman çözeltisi konsantrasyonu, tüm duman işlemlerine olumlu yanıt veren *L. stoechas* ve *S. thymbra* türleri dışında çimlenmeyi uyarmamıştır. Bu nedenle, çimlenmeyi iyileştiren DS konsantrasyonu spesifiktir. Sonuçlar göstermiştir ki, Akdeniz Lamiaceae türlerinde DS'nin çimlenme



hakkındaki mevcut sınırlı bilgiye katkıda bulunmuştur ve dumanın bu aile için önemli bir çimlenme işareti olduğu fikrini desteklemiştir.

Chumpookam vd., (2012), bu çalışmada DS'nin, papaya (*Carica papaya* ev. Tainung No. 2) tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. DS elde için kuru pirinç samanı (*Oryza sativa*) yakılmıştır ve çimlenme deneyleri, büyüme deneyleri ve tohumların anatomik yapı değişiklikleri için kullanılmıştır. Çimlenme deneylerinde papaya tohumları, farklı konsantrasyonlarda DS (%0,1, %0,2, %1, %2, %3, %4, %5, %7 ve %10, v/v) içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Sonuç olarak düşük DS konsantrasyonları (%0,1 ve %0,2, v/v) sadece maksimum çimlenme oranını desteklemekle kalmamıştır, aynı zamanda çimlenme süresini de kısaltmıştır. %0,1 ve %0,2 v/v DS konsantrasyonları ile muamele edilen tohumların uzunlamasına kesitlerinin analizi, DS'nin su geçirmezlik engellerinin üstesinden gelebileceği, çünkü tohum kabuğunun yırtulmasını uyardığı ve radikulanın uzamasına ve daha hızlı ortaya çıkmasına izin verdiği sonucuna varılmıştır. Büyüme deneylerinde, papaya fideleri, farklı DS konsantrasyonları (%0, %1, %2, %3, %4, %5, %7 ve %10, v/v) ile doyurulmuş saksılara nakledilmiştir. Sonuçlar, tüm büyüme parametrelerinin kontrole kıyasla önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Ek olarak, DS uygulaması sürekli ve önemli ölçüde köklerde ve sürgünlerde azot yüzdesini artırmıştır ve sürgünlerdeki magnezyum yüzdesini önemli ölçüde artırmıştır. Düşük konsantrasyonlarda DS çimlenme oranında artış göstermektedir ve tüm konsantrasyonlarda klorofil içeriği ve fide canlılığı indeksi gibi çoklu büyüme özelliklerini teşvik ettiği sonucuna varılmıştır.

Kulkarni vd., (2007), bu çalışma DS ve butenolidin (DS'den izole edilmiştir) bamyaya [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] ve domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) yapraklarına uygulanmasının fide büyümesi üzerine etkileri incelenmek için yapılmıştır. DS ekstresi için *Themeda triandra* Forssk bitkisi bir sistem içerisinde 45 dk. boyunca yakılıp dumanın 500 mL su içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. DS (1:500 v/v), 1 mL sulu duman ekstraktının damıtılmış su ile 500 mL'ye seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Butenolid 0,1 µM kullanılmıştır. Bamyaya fidelerinin DS (1: 500 v/v) ile muamele edilmesi, sürgün/kök uzunluğunda, sürgün taze/kuru ağırlığında, yaprak sayısında, toplam yaprak alanında ve gövde kalınlığında önemli ( $P<0,05$ ) bir artış gösterdiği bulunmuştur. Bamyaya fidelerinin DS ile muamelesi, haftalık mutlak büyüme oranını önemli ölçüde ( $P<0,05$ ) artırmıştır. Öte yandan, DS'nin ve butenolidin yapraklara uygulanması, domatesin fide büyümesi üzerinde

belirgin bir etki göstermiştir. Her iki muamele için incelenen büyüme parametrelerinin çoğu, önemli ölçüde ( $P < 0,05$ ) artmış ve kontrolden önemli ölçüde ( $P < 0,05$ ) daha yüksek haftalık mutlak büyüme oranı ve fide canlılığı indeksi ile sonuçlanmıştır. Bu çalışma, DS veya butenolidin yapraklara uygulanmasının, sebze mahsullerinin fide büyümesini arttırmak için faydalı ve ucuz bir teknik olabileceğini göstermektedir.

Kulkarni vd., (2006), bu çalışmada, DS ve butenolidin (DS'den izole edilen), yerel bir çeltik çeşidinin sürgün ve kök uzaması üzerindeki etkileri incelenmiştir. DS 1:500, 1:1000, 1:2000 konsantrasyonlarında, butenolid ise  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  ve  $10^{-10}$  mM konsantrasyonlarında kullanılmıştır. DS (1:500) ve butenolid ( $10^{-8}$  mM) uygulamaları, sürgün uzunluğunu önemli ölçüde arttırmıştır. Düşük bir butenolid konsantrasyonu ( $10^{-10}$  mM) kontrole göre maksimum kök uzunluğunu ve fide ağırlığını arttırmıştır. Butenolid ( $10^{-8}$  mM) uygulanan fide, işlenmemiş fidelerden çok sayıda daha fazla yanal köklere sahip olmuştur. DS (1:500) ve butenolid ile muamele edilmiş ( $10^{-8}$  mM) çeltik tohumlarının canlılık indeksi, muamele edilmemiş tohumlardan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur.

Kulkarni vd., (2008), "Heinz-1370" domates (*Solanum lycopersicum* L.) fideleri, verim ve besin bileşimi açısından DS ve butenolid ile test edilmiştir. *Themeda triandra* bitkisinin yaprakları (5 kg), 20 L'lik bir metal varil içinde yakıldı ve basınçlı hava kullanılarak duman 45 dk. boyunca 500 mL su içeren bir cam kolondan sürekli olarak fokurdattılmıştır. DS filtre kağıdından süzölmüştür ve stok çözelti olarak kullanılmıştır. DS iki farklı konsantrasyonda (1:500 ve 1:2000) uygulanmıştır, butenolid ise 1 nM uygulanmıştır. DS (1:500) uygulaması, ekimden 57 ile 78 gün sonra maksimum fide boyu, yaprak sayısı ve gövde kalınlığını göstermiştir. Ekimden 85 ile 95 gün sonra meyveli bitkilerin yüzdesi, DS ve butenolid solüsyonunun uygulanmasıyla kontrole göre çok daha fazla bulunmuştur. Pazarlanabilir toplam meyve sayısı, DS ile muamele edilmiş (1:500) domates bitkileri (168) için kontrole göre (124) önemli ölçüde daha yüksek ( $P \leq 0,05$ ) bulunmuştur. Butenolid ve daha düşük DS konsantrasyonu (1:2000) daha fazla meyve vermiştir, ancak kontrolden önemli ölçüde ( $P \geq 0,05$ ) farklı bulunmamıştır. Daha fazla sayıda meyve elde edilmesine rağmen, duman uygulamaları meyvenin boyutunu, ağırlığını ve besin bileşimini (askorbik asit, b-karoten, likopen ve toplam çözünür katı maddeler) önemli ölçüde değiştirmemiştir ( $P \geq 0,05$ ). DS ve butenolid uygulanmış bitkilerin hasat endekslerine bakıldığında, domates yetiştiriciliği için DS'nin kullanımı tavsiye edilmektedir.

Baxter ve Van Staden, (1994), *Themeda triandra* bitkisinden elde edilen DS yine aynı bitkinin tohumlarına uygulanarak tohum çimlenme ve fide gelişim oranları incelenmiştir. Tohumlar 24 saat saf su ve DS ile ıslatılmış filtre kağıtları üzerinde ön uygulamaya tabi tutulmuştur. Daha sonra kontrol grupları ile birlikte saf su ile ıslatılmış nemli filtre kağıtlarında 25 °C±2 °C sıcaklıkta saklanmıştır ve 3., 7. ile 21. günler değerlendirilmiştir. Kontrollere göre en iyi çimlenme 21. günde ön uygulamadan geçmiş DS grubunda gerçekleşmiştir. DS uygulamasının fide büyümesi üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır. Saf su ile ön uygulamaya tabi tutulan tohumlardan elde edilen fidelerin yüksekliğinde ve sürgün sayısında önemli derecede azalma olmuştur.

Van Staden vd., (2006), *Themeda triandra* bitkisinden elde edilen DS (1:500) ve DS'den izole edilen butenolidin ( $10^{-7}$  M) domates, bamyada ve mısır tohumlarının sürgün, kök ve fide gelişim oranları üzerine etkisi incelenmiştir. DS ve butenolid, kontrole kıyasla tüm tohumların hem kök hem de sürgün uzunluklarını artırarak fide büyümesini önemli ölçüde arttırmıştır. Domateste, butenolid ile muamele edilen fidelerin kök uzunlukları, su ile büyütülen kontrol fidelerinin köklerinden 10 kat daha uzun bulunmuştur. Hem bamyada hem de fasulyede kök uzunlukları ortalama olarak üç kata kadar çıkarılmıştır. Muamele edilmemiş ve butenolid ile muamele edilmiş fideler arasındaki sürgün uzunluklarındaki fark, hem domates hem de bamyada istatistiksel olarak oldukça önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ), bu da duman bileşiğinin hücre uzamasını ve bölünmesini uyarabileceğini düşündürmektedir. Hem DS hem de butenolid ile muamele edilmiş tohumlar, muamele edilmemiş tohumlara kıyasla önemli ölçüde ( $P<0,05$ ) daha yüksek taze fide kütlesi ve canlılık indeksleri göstermiştir. Ayrıca, 8 günlük butenolid ile muamele edilmiş ve dumanlı suyu ile muamele edilmiş mısır fidelerinin, kontrol fidelerine kıyasla daha fazla kök geliştirdiği gözlenmiştir. Ekimden bir saat önce butenolid çözeltisine batırılmış mısır tohumları, 30 gün sonra kök ve sürgünün taze ve kuru ağırlıklarını önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur. Butenolid ile muamele edilmiş bitkilerde yaprak sayısı, sürgün yüksekliği ve fide canlılık yüzdesi daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar dumandan türetilen bileşiğin çimlenme sonrasında da uyarıcı etkiler sergilediğini ve bir bitki büyüme destekleyicisi olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Kochanek vd., (2016), farklı bitkisel materyalleri, farklı süre ve sıcaklıkta yakarak biyokömür elde edilmiştir. Yeşil atıklar ile oluşturulan deney grupları; Tech A (300 kg)

yavaş ısıtma işlemi (piroliz) 550 °C'de 40 dk., Tech B (250 kg) yavaş ısıtma işlemi 590 °C'de 28-29 dk. ve Tech C (600 kg) hızlı ısıtma işlemi, 600-660 °C'de 2,5 dk.'de bitkisel materyaller yakılmıştır. Şeker kamışı atıklarıyla oluşturulan deney grubunda; Tech C hızlı ısıtma işlemi (600 kg), 680-730 °C'de 2 dk. boyunca bitkisel materyaller yakılmıştır. Kağıt fabrikası atıkları ve talaştan oluşturulan deney grubu; Tech A yavaş ısıtma işlemi (20 L kapasiteli bir reaktörde yakılmıştır), 450 °C 40 dk. boyunca yakılmıştır. Çimlenme ve bitki gelişimi ile ilgili deney grupları kurulmuştur. Çimlenme testi için dormansisi kolayca kırılan *Solanum orbiculatum* Poir. ve *Brassica tournefortii* Gouan. türleri kullanılmıştır. Bitki büyüme analizinde marul (*Lactuca sativa* L. cv. Archangel Nr) ve domates kullanılmıştır, çünkü her iki tür de KAR1, biyokömür ve fitotoksinlere karşı plastisite göstermektedir. Saf KAR1'in bitki parametreleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için, 0,67 µM KAR1 konsantrasyonunda kullanılmıştır. Ayrıca Tech B'den gelen DS dormansi analizinde test etmek için, 1:10, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:5000 ve 1:2000 oranda seyreltilmiştir. Ekstraktları hazırlamak için kuru ağırlıkça 50 g biyokömür (5,7 mm'lik bir elekten elenmiş) 100 mL Milli-Q su ile birleştirilmiştir ve karanlıkta dönen bir sistem ile 24 saat çözünmesi sağlanmıştır. Ekstraktlar iki Whatman #1 filtre kağıdından vakumla süzülüp ve ekstrakte edilmiştir. Saf (seyreltme yok), 1:5, 1:20 ve 1:50 oranında seyreltilmiştir. Tohumlar ekstraktlar ile ıslatılmış filtre kağıtları ile petri kaplarına yerleştirilmiştir. Saf KAR1 (0,67 µM) tohumları %100'e kadar çimlendirmiştir, ancak yalnızca su üzerine ekildiğinde sırasıyla %0 ve %8 oranında çimlendirmiştir. *Solanum orbiculatum* Poir. tohumları Tech B biyokömürü ile %82 oranında çimlenmiştir. Bu ekstrakt giderek seyreltikçe çimlenen tohum sayısı %50 ve altına düşmüştür. Ancak biyokömürlerdeki KAR1 bolluğu tohum çimlenmesini garanti etmemiştir; *B. tournefortii* tohumlarının dormansisi, yüksek miktarda KAR1 içeren biyokömür tarafından kırılmamıştır ve *S. orbiculatum* tohumları, yüksek miktarda KAR1 içeren Tech B biyokömürünün özleri ile başarılı bir şekilde çimlendirilmiştir, ancak daha da yüksek KAR1 konsantrasyonları içeren Tech A biyokömürü ile çimlendirilmemiştir. Buna karşılık, Tech B'den gelen DS, çimlenmeyi neredeyse sentetik karrikinolid kadar etkili bir şekilde uyarmıştır (*S. orbiculatum* için %91'e ve *B. tournefortii* için %96'ya kadar). Bitki gelişimlerine etkisi bakıldığında, domates bitkisi boyutu genellikle ara biyokömür oranlarında maksimum zirveye yükselmiştir ve daha sonra daha yüksek dozlarda azalmıştır, bu nedenle sürgünler bodur ve küçük elde edilmiştir, marul bitkileri biyokömür dozu arttıkça genellikle büyümüştür, böylece en büyük bitkiler en yüksek dozdan elde edilmiştir. Bununla birlikte,

biyokömürün kök tepkisi her iki tür için de benzer olmuştur; kökler genellikle artan biyokömür dozlarında çok kısa kaldığı bulunmuştur.

### 2.4.3. Tuz Stresi ve Gen Anlatımı ile İlgili Çalışmalar

Jamil vd., (2014), *Bauhinia variegata* (L.) Benth. ve *Cymbopogon jwarancusa* (L.) Spreng. bitkilerini yakarak DS elde etmişlerdir. Elde ettikleri DS'i 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranında sulandırarak tuz stresi altındaki (NaCl) indica çeltik çeşidinin (NIAB-IR-9) fizyolojik ve biyokimyasal yönleri üzerine araştırma yapmışlardır. Tohumlar hem su hem de duman çözeltilerinde 24 saat boyunca bekletilmiştir. Çimlenme ve fide canlılığı için on günlük deneme yapılırken, bitkiler biyokimyasal parametreleri değerlendirmek için 30 gün boyunca dört tuz seviyesi (0, 50, 100 ve 150mM NaCl) ile tuzlanmış kum kültürüne tabi tutulmuştur. DS'de bekletilmiş tohumların çimlenme yüzdesinde (%23,3) ve fide kuvvetinde, yüksek tuz konsantrasyonunda dumansız tohumlara kıyasla önemli artış meydana gelmiştir. DS'de bekletilmiş tohumlar, taze ve kuru ağırlığında da önemli bir artış göstermiştir. Farklı duman seyreltmeleriyle bekletilmiş tohumlardan yetiştirilen bitkiler, tuzlu koşullarda suda bekletilmiş tohumlardan yetiştirilen bitkilere kıyasla  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ 'yı arttırmış ve  $Na^+$  içeriğini azaltmıştır. Benzer şekilde, DS'de bekletilmiş tohumlardan yetiştirilen bitki, dumanla işlem görmemiş bitkilere kıyasla daha yüksek klorofil a ve b ve karotenoid içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Tuz seviyesi arttıkça duman çözeltileri ile muamele edilen bitkilerde toplam azot ve protein içeriği konsantrasyonu da arttığı gözlenmiştir. 1:500 hem fizyolojik hem de biyokimyasal düzeyde tuz stresini önemli ölçüde azaltan en fazla etki gösteren seyreltme olmuştur. Çalışmada bitki kaynaklı duman çözeltisinin, çeltik bitkilerinde tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltarak verimliliği artırabilecek bazı büyüme düzenleyici bileşiklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Soós vd., (2009), mısırdaki erken çimlenme sonrası fazda DS'nin fide canlılığı ve transkriptomdaki değişiklikler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kontrol (su), 1:500 ve 1:1,000 (v/v) DS grupları ile 100  $\mu$ M ABA ve 1:500 DS+100  $\mu$ M ABA deney grupları oluşturulmuştur. DS uygulamasının başlamasından 24 ve 48 saat sonra embriyoların ve ortaya çıkan radikulaların transkripsiyonel yanıtı araştırılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1:500'lük DS konsantrasyonu önemli ölçüde çimlenmeyi daha fazla arttırmıştır. ABA uygulaması deneyin ilk yarısında daha yavaş bir çimlenme oranına neden

olmuştur ancak daha sonra çimlenme yüzdesi kontrollerle aynı oranda gerçekleşmiştir. En yüksek fide canlılığı, 1:500 DS grubunda meydana gelmiştir. Bu fideler, kontrole kıyasla önemli ölçüde daha uzun kök ve sürgünlere, daha fazla köke sahip olduğu bulunmuştur ve 9 gün sonra önemli ölçüde daha yüksek kuru ağırlığa sahip olduğu tespit edilmiştir. DS+100 µM ABA ile birlikte uygulandığında, su veya tek başına ABA ile karşılaştırıldığında canlılığın azaldığı gözlenmiştir. Fide canlılığı üzerindeki bu azalmanın temel olarak daha düşük çimlenme yüzdesine ve daha kısa kök uzunluğuna bağlı olabileceği düşünülmektedir. Mikrodizi çalışması, aralarında stres ve ABA ile ilgili genlerin aşırı anlatıma uğradığı bir dizi dumana duyarlı gen ortaya çıkarmıştır. Bu genlerin aşırı ifadeye uğraması, duman uygulamasının çimlenme sonrası erken fazda stres ve ABA ile ilgili tepkileri indüklediğini ve bunun da çimlenme sırasında meydana gelen çevresel stres faktörlerine daha iyi adaptasyona yol açtığını ve sonuçta daha fazla fide canlılığı ile sonuçlandığını gösterdiği düşünülmektedir.

Jain ve Van Staden, (2007), bu çalışma domates (*Solanum esculentum* Mill.) tohumlarının çimlendirme ajanı olarak DS'nin (butenolid) potansiyelini değerlendirmek için yapılmıştır. DS uygulanmış tohumlar başlangıçta 48 saatlik bir süre içinde su ön uygulamasına maruz bırakılan ve bırakılmayan tohumlardan daha hızlı çimlenirken, su emdirilmiş tohumlar 60 saatlik inkübasyonla DS ile ön uygulamaya maruz bırakılan tohumlarla benzer bir çimlenme seviyesine ulaşmıştır. Kökün ortaya çıkışı, su ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlarda çok daha hızlı olmuştur. 36 saatlik emdirmeden sonra, DS ile ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlar (%22), suyla ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlara (%12) kıyasla daha fazla kök oluşumu sergilemiştir. DS ile ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlar, sürekli olarak su ya da DS varlığında ya da sadece suyla ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlardan önemli ölçüde daha güçlü fideler üretmiştir. Bununla birlikte, DS ile ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlarda canlılık indeksi, su ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlardan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Çeşitli stres koşulları altında (tuzluluk, osmotik ve sıcaklık) DS ile ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlar için canlılık indeksleri, kontrol ve su ön uygulamasına maruz bırakılan tohumlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Mevcut çalışmanın sonuçları, butenolidin iyi bir tohum hazırlama maddesi olduğunu göstermektedir. Ek olarak, ön uygulamaya maruz bırakılan tohumlar önemli bir süre teşvik edici etkisini korumuştur. Bu aynı zamanda çeşitli simüle edilmiş tarla stres koşulları

altındaki domates tohumları için de geçerliydi. Mevcut çalışmanın sonuçları, DS'nin iyi bir tohum hazırlama maddesi olduğunu göstermiştir. Bu aynı zamanda çeşitli tarla stres koşulları altındaki domates tohumları için de kullanım potansiyelinin olabileceğini ortaya koymaktadır.

Masondo vd., (2018), tuzluluk stresi altındaki *Ceratotherca triloba* (Bernh.) bitkisinde DS ve KAR1 maddesinin etkilerini araştırmışlardır. DS 1:500 v/v, KAR1  $10^{-6}$  M ve NaCl ise 0, 5, 15, 25, 50 mM konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Tohumlar 48 saat boyunca DS ve KAR1 maddeleri ile muamele edilmiştir. Daha sonra çimlenme ve fide gelişimi için filtre kağıdı arasında gelişimleri sağlanmıştır. Tuz genel olarak çimlenmeyi ve bitki gelişimini olumsuz etkilemesine rağmen artan tuzluluk konsantrasyonunda KAR1, kontrol ve DS grubuna göre daha fazla tohum çimlenmesini sağlamıştır. KAR1 DS'ye göre daha fazla sürgün ve kök gelişimini desteklemiştir. Bitkilerin canlılık indeksi ise yine KAR1 grubunda daha fazla bulunmuştur.

Shah vd., (2020), bu çalışmada, *Sapium sebiferum* (L.) Small bitkisinde KAR1'in tuzluluk stresini önemli ölçüde azaltabildiği bulunmuştur. Büyüme ortamına 1 nM konsantrasyonda KAR1 takviyesi, tuz stresi koşulları altında tohum çimlenmesi için yeterli bulunmuştur. KAR1'in 1 nM'ı fide biyokütlesini gelişimini sağlamış, kök uzunluğunu arttırmış ve abiyotik stres koşulları altında yan köklerin sayısını arttırmıştır, bu da KAR1'in bitkilerde abiyotik stres koşulları için güçlü bir madde olduğunu düşündürmektedir. Abiyotik stres koşulları altında, KAR1 ile muamele edilmiş fideler, kontrol ile karşılaştırıldığında, SOD, POX, CAT ve APX gibi temel antioksidatif enzimlerin daha yüksek aktivitesine sahip olmuştur, bu da daha düşük bir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ve MDA seviyesine yol açmaktadır. Ayrıca, metabolom analizi, KAR1 uygulamasının stres koşulları altında redoks homeostazında önemli roller oynayan organik asitler ve amino asitlerin seviyesini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir, bu durum KAR'ların redoks homeostazının düzenlenmesi yoluyla abiyotik stresleri hafifletebileceğini düşündürmektedir.

Çatav vd., (2021), buğday (cv. Bayraktar-2000) bitkisinde DS'nin (%0,1) tuzluluk (150 mM) stresine karşı etkilerini incelemiştir. Çalışmada tuz stresine maruz kalan buğday fidelerinde dumanın, transkripsiyon faktörlerini ve antioksidan enzimleri (APX, CAT, GR, POX ve SOD) kodlayan bazı genlerin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Tuzluluk stresi altındaki fidelerde DS'nin TaDREB1, TaWRKY2, TaWRKY19, CAT ve

Cu/Zn-SOD ekspresyon seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. DS ayrıca normal büyüme koşulları altında TaWRKY19 ve Cu/Zn-SOD genlerinin transkripsiyonunu da arttırmıştır. Ek olarak, dumanın buğday fidelerinin tuzluluğa karşı fizyolojik tepkilerini hafiflettiği bulunmuştur. Sonuçlar, DS'nin tuz stresi altında toplam fenolik içeriği ve serbest radikal temizleme aktivitesini arttırdığını ancak prolin birikiminde önemli bir azalmaya yol açtığını göstermektedir. Ayrıca tuz stresi altındaki deney grubuna karşı NaCl+DS grubunda kök ve sürgün uzunluğunda artış meydana gelmiştir.

Malook vd., (2017), İki çeltik çeşidinin (Basmati-385 ve Shaheen Basmati) tohumları, 24 saat boyunca duman çözeltisine maruz bırakılmıştır. DS'ye maruz bırakılan tohumlar, bitkinin taze ve kuru biyokütlesi, elementel alımı ve miyeloblastoz (MYB) ve çinko parmak (ZAT12) genlerinin farklı NaCl seviyelerine (0, 50, 100 ve 150 mM) karşı ifadesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılmıştır. Tuz stresinin artan seviyesi ile bitkinin taze ve kuru biyokütlesi azalırken, duman ön işleme maruz bırakılmış tohumlardan yetiştirilen bitki, tuz stresinin olumsuz etkisini azaltmıştır. Ortamdaki tuz konsantrasyonunun artmasıyla sodyum iyonu konsantrasyonu ve  $Na^+ /K^+$  oranı artarken, potasyum iyonu konsantrasyonu azalmıştır. Sodyum iyonu miktarı köklerde sürgünlere göre daha yüksek, potasyum ise köklerde sürgünlere göre daha düşük bulunmuştur. Duman çözeltisi hem köklerde hem de sürgünlerde sodyum iyonu alımını azaltarak ve potasyum iyonlarını artırarak tuz stresinin zararlı etkisini azaltmıştır. MYB ve ZAT12 genlerinin ekspresyonu RT-PZR kullanılarak kontrol edilmiştir. Sonuçlar, MYB ve ZAT12 protein genlerinin, çeşitli tuz stresi seviyeleri altında farklı şekilde ifade edildiğini, tohumları DS ile hazırlamanın tuz stresinin şiddetli etkisini hafifleterek MYB ve ZAT12 protein genlerinin ifade profilini değiştirdiğini göstermektedir. Duman solüsyonu ile ön işleme maruz bırakılan bitkileri iyonik toksisiteden koruduğu, çeltik büyümesi üzerinde umut verici bir etki gösterdiği ve tuzlu koşullarda mahsul verimliliğini arttırmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Mathnoom ve Abo Al-Timmen, (2020), çalışma farklı konsantrasyonlarda NaCl'ün (0, 100, 150, 200 nM) *Cucumis sativus* L. tohum çimlenmesi üzerindeki toksik etkisini hafifletmek için farklı konsantrasyonlarda DS özütünün (0, 1:10, 1:100, 1:200) kullanımını içermektedir. Tohumlar, iki farklı periyot (24, 72) saat boyunca DS ekstraktında bekletilmiştir. Tohumların DS'de bekletmek çimlenmede önemli bir artışa neden olmuştur,



yüzde 40,38'den 71,08'e çıkmıştır. Ayrıca DS'de bekletme süresinin artması çimlenme yüzdesinin artmasına neden olmuştur. Tohumları 72 saat DS'de bekletmek 200 mM NaCl konsantrasyonunda kontrole göre (%2) 1:200 DS konsantrasyonu (%99) çimlenmeyi önemli ölçüde arttırmıştır. Ayrıca çalışmada IAA, GA, CK ve ABA konsantrasyonları da belirlenmiştir. Endojen fitohormonlar, DS'nin, tuz stresinin ve hazırlama süresinin etkisi için fizyolojik bir parametre olarak tahmin edilmiştir. Tohumlar farklı NaCl konsantrasyonları ile muamele edildiğinde IAA ve GA konsantrasyonunun kademeli olarak azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte, tohumlar özellikle 72 saat boyunca DS'de bekletildiğinde IAA konsantrasyonu artmıştır. Oysa stres koşulları sırasında CK önemli ölçüde artmıştır. DS ekstraktı ile ön işleme maruz bırakılmış tohumların yanı sıra, DS konsantrasyonunun azalmasıyla ters orantılı olarak CK konsantrasyonlarında kademeli bir artış görülmüştür ve bu etkiler 72 saatlik DS uygulamasından sonra ortaya çıkmıştır. Öte yandan, ABA tuz stresi ve DS uygulaması sırasında önemli ölçüde azalırken, 72 saat boyunca DS'de bekletmek artışa neden olmuştur.

Sharifi ve Shirani Bidabadi, (2020), bu çalışmada, çörek otunda tuz toleransını arttırmak için KAR ve kalsiyumun ( $CaCl_2$ ) etkilerini değerlendirmişlerdir. Tuzluluk stresi, elektrolit sızıntısı, malondialdehit ve hidrojen peroksit içeriğini artırarak oksidatif strese neden olurken, çörek otu tohum verimi, yağ asidi içeriği ve bileşimi, toplam klorofil içeriği, klorofil floresansı ve yaprak gazı değişim parametreleri üzerinde olumsuz bir etkiye neden olduğu bulunmuştur. KAR ön işleme tabii tutulmuş fidelerde  $CaCl_2$  uygulaması ayrıca askorbat-glutasyon döngüsündeki enzimlerin, diğer antioksidanların (SOD, CAT) ve prolin aktivitelerini artırarak tuzluluk kaynaklı değişiklikleri iyileştirdiği tespit edilmiştir.

Hayat vd., (2022), bu çalışmada DS'nin buğdaydaki tuz stresini nasıl azaltabileceğinin moleküler mekanizmasını rapor etmişlerdir. 2000 ppm DS, tohum çimlenmesini, kök/sürgün uzunluğunu ve fidenin taze ağırlığını arttırdığını bulmuşlardır. Bununla birlikte, 500 ve 1000 ppm DS, önemli bir etki göstermemiştir. 150 ve 200 mM'deki tuz stresi, buğday fidelerinin tohum çimlenme oranını, kök/sürgün uzunluğunu ve taze ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır. 2000 ppm konsantrasyonda DS takviyesi, tuz stresi koşullarında tohum çimlenmesini yeniden sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca DS 150 ve 200 mM tuz stresi altında kök/sürgün uzunluğunu ve fide biyokütlesini iyileştirmiştir, bu da DS'nin mahsullerde abiyotik stresi azaltabilen güçlü bir bitki ürünü olduğunu

düşündürmektedir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, DS ile muamele edilmiş fideler tuz stresi altında SOD, POX ve APX gibi majör antioksidatif enzimlerin aktivitesinde artış göstermiştir, bu da hidrojen peroksit ve lipid peroksidasyonu seviyelerinin düşmesine neden olmuştur, bu durum DS'nin muhtemelen tuz stresine yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Çatav vd., (2021), tuz stresine (150 mM NaCl) maruz kalan buğday fidelerinde DS'nin, transkripsiyon faktörlerini ve antioksidan enzimleri kodlayan bazı genlerin ekspresyonunu düzenlediğini göstermişlerdir. Tuzlu fidelerde DS'nin (%0,1) TaDREB1, TaWRKY2, TaWRKY19, CAT ve Cu/Zn-SOD ekspresyon seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. DS ayrıca normal büyüme koşulları altında TaWRKY19 ve Cu/Zn-SOD genlerinin transkripsiyonunu da arttırdığı bulunmuştur. Ek olarak, DS'nin buğday fidelerinin tuzluluğa karşı fizyolojik tepkilerini modüle ettiği bulunmuştur. Sonuçlar, DS'nin tuz stresi altında toplam fenolik içeriği ve serbest radikal temizleme aktivitesini arttırdığını ancak prolin birikiminde önemli bir azalmaya yol açtığını göstermektedir. Sonuç olarak, mevcut çalışma, dumanın test edilen konsantrasyonda büyüme üzerinde kayda değer bir etkisi olmamasına rağmen, kısa süreli tuz stresine maruz kalan buğday fidelerinde fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçleri etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

Shah vd., (2021), buğdayda KAR1'in tuz stresinin toleransında rol oynayan fizyolojik mekanizma araştırılmıştır. Sonuçlar, KAR1'in GA<sub>3</sub> biyosentezini düzenleyen genlerin nispi ekspresyonunu uyararak ve ABA biyosentezi ve sinyal genlerinin ekspresyon seviyelerini azaltarak tuzluluk stresi altında tohum çimlenme yüzdesini artırdığını göstermektedir. Tohum çimlenmesinde görüldüğü gibi, KAR1'in eksojen takviyesi, buğday fidelerinde tuz stresini önemli ölçüde azaltmıştır ve tek başına tuz stresine kıyasla biyokütüde ölçülen kök ve sürgün büyümesinin artmasına neden olmuştur. Tuz stresi, endojen hidrojen peroksit ve malondialdehit seviyelerini önemli ölçüde indüklerken, KAR1 bunları kesinlikle dengelemiştir. KAR1'in eksojen takviyesi, tuz stresine maruz kalan buğday fidelerinde enzimatik antioksidanların aktivitelerini önemli ölçüde desteklemiştir. KAR1, tuzluluk altında buğday fidelerinde antioksidanların biyosentezini düzenleyen genlerin nispi ekspresyonunu indüklemiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, buğdayda tuz stresine karşı KAR1'in koruyucu rolü ortaya konulmuştur.

Shah vd., (2020), bu çalışmada *Sapium sebiferum* yağ bitkisinde KAR1'in hem kuraklık hem de tuz stresini önemli ölçüde azaltabildiği bulunmuştur. Büyüme ortamında nanomolar (nM) konsantrasyonda KAR1 takviyesi, tuz ve ozmotik stres koşulları altında tohum çimlenmesi için yeterli olmuştur. KAR1'in bir nanomoları fide biyokütlesini iyileştirmiş, kök uzunluğunu arttırmış ve abiyotik stresler altında yan köklerin sayısını arttırmıştır, bu da KAR1'in bitkilerde abiyotik stres faktörlerinde güçlü bir tolerans sağladığını düşündürmektedir. Abiyotik stresler altında, KAR1 ile muamele edilmiş fideler, kontrol ile karşılaştırıldığında SOD, POX, CAT ve APX gibi temel antioksidatif enzimlerin aktivitesini arttırmıştır ve daha düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MDA ve elektrolit sızıntısına yol açmıştır.

Shabir vd., (2021), bu çalışmada iki buğday çeşitleri (NARC 2011 ve NARC 2009), DS çözeltisinin farklı konsantrasyonlarında emdirilmiş ve tuzluluğa (50 mM ve 100 mM NaCl) tabi tutulmuştur. Her üç konsantrasyon arasında (1:100, 1:250 ve 1:500), 1:500 DS çözeltisi çimlenme, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerde gelişme göstermiştir. 50 mM ve 100 mM tuzlulukta sırasıyla %48,9 ve %27,7 çimlenme yüzdesinde artış olduğu bulunmuştur. Bitki fizyolojik özellikleri (yani, bağıl su içeriği, yaprak su potansiyeli, yaprak ozmotik potansiyeli, zar stabilite indeksi, yaprak klorofil içeriği, iyonik içerik) ve biyokimyasal parametreler (yani prolin içeriği, serbest amino asit, çözünür şeker, protein içeriği) arasında da benzer sonuçlar bulunmuştur. Antioksidan enzim olan SOD aktivitesi, 1:500 DS solüsyonu uygulanarak 50 mM ve 100 mM NaCl'de sırasıyla %14.02 ve %10.5'lik bir azalma göstermiştir. Sonuç olarak stres koşullarında DS'nin NARC 2011 buğday çeşidi üzerinde olumlu ve uyarıcı etkiler gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca DS gelecekte fitohormonlara alternatif olarak kullanılabilineceği bulunmuştur.

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Araştırmada, materyal olarak Rosaceae (Gülgiller) familyasına ait *P. armeniaca*, bitkisinin cv. Şalak kayısı çeşidinin olgun tohumları (ağaç yaşı 10-12) kullanılmıştır (Şekil 2). Çalışmada kullanılan materyallerin tamamı Iğdır Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezinden (TUAM) temin edilmiştir. Toplanan kayısı meyveleri etli kısımlarından ayrıldıktan sonra yıkanarak gölge ve serin bir yerde kurutulmuştur.



Şekil 2. Kullanılan materyalin sırasıyla ağaç, meyve ve tohum hali.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Duman Suyu Eldesi

Carbolite marka ELF 11/6B model kül fırınında yonca samanı 1 kg/1 L yakılarak dumanın nuçe erlenindeki suda çözünmesi sağlanıp duman suyu (smoke water-DS) elde edilmiştir (Şekil 3). Yonca samanı 275 °C sıcaklıkta 60 dk. boyunca kül olana kadar yanması sağlanmıştır. Dumanın suda daha fazla çözünebilmesi için nuçe erleninin altına buz aküsü konulmuştur. Elde edilen DS kullanılabildiği kadar +4 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3. A: Yonca samanını kül fırınında yakma işlemi, B: Elde edilen duman suyu.

### 3.2.2. HPLC ile Duman Suyu İçeriğindeki Karrikin Miktarının Ölçümü

HPLC uygulaması Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezinde (ALUM) hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. HPLC işlemi Diode Array (DAD) dedektörü içeren Agilent 1260 Infinity Series cihazı ile yapılmıştır. Kolon olarak 5 mikrometre çapında, 20 mikrometre enjeksiyon hacmine sahip Zorbax C18 (4,6×250 mm) ters faz kolonu kullanılmıştır. Kolon 1 mL/dk. 30 °C’de %50 asetonitril ile 10 dk., daha sonra %50 H<sub>2</sub>O ile 10 dk. boyunca yıkanmıştır (elute). UV absorbansı 325/4nm dalga boyunda ölçülmüştür. Daha sonra ticari olarak temin edilen KAR1 (Toronto Research Chemicals Canada) HPLC cihaz kütüphanesine eklenmiştir. KAR1 cihaza 5,08076 ng µL<sup>-1</sup> konsantrasyonda tanıtılmıştır. Daha sonra DS’nin içerisindeki KAR1 miktarını ölçmek için DS cihaza tanıtılmış, cihazın vermiş olduğu pik süresi ve KAR1 miktarı değerlendirilmiştir.

### 3.2.3. Tohum ve Çalışmada Kullanılacak Diğer Malzemelerin Sterilizasyonu

Yüzey sterilizasyonundan önce kayısı tohumlarının endokarp kısmı çekiç ile kırılmıştır. Tohumlar 3-5 dk. akan suyun altında yıkandıktan sonra %70’lik etil alkol içerisinde 40 sn’lik bir ön sterilizasyona tabi tutulmuştur. Farklı süre ve konsantrasyonlarda sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonunda yüzeysel sterilizasyonları sağlanmıştır (Tablo 2).

Sterilizasyondan sonra 3 defa steril saf su ile durulanmıştır. Tohum üzerindeki testanın soyulmasını kolaylaştırmak ve ABA'nın etkinliğini azaltmak için tohumlar 24 saat boyunca  $4\pm 1$  °C'de steril saf suda bekletilmiştir.

Tablo 2

Kayıslı tohumlarının yüzey sterilizasyonu

Sterilizasyon Numarası	Süre (dk)	NaClO (%)
1	10	% 10
2	15	% 10
3	20	% 10
4	10	% 15
5	15	% 15
6	20	% 15
7	10	% 20
8	15	% 20
9	20	% 20

2 mg KAR1 maddesi steril edilmeden önce 2 mL kloroform çözücüsünde çözdürüldükten sonra elde edilen stok çözeltiden (1000 ppm) seyreltme (0,01  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M) yapılarak kullanılmıştır. DS ise yakım işleminden sonra elde edilen stok çözeltiden seyreltme (1:100, 1:500, 1:1000, 1:5000, 1:10000) yapılarak kullanılmıştır. DS çalışmada kullanılmadan önce filtre kağıdından geçirilmiştir. DS, KAR1, BAP ve GA<sub>3</sub> kullanılmadan önce membran filtreden (0,22  $\mu$ m) geçirilerek steril edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak olan cam malzemeler (petri kapları, magentalar, mezür, erlen, beher, şişeler vb.), filtre kağıtları, pens ve bistüriler, saf su ve hazırlanan besi ortamları 1,2 atmosfer basınç altında 121 °C sıcaklıkta 15 dk. süre boyunca otoklavda sterilize edilmiştir.

### 3.2.4. Tohumların Çimlendirilmesi ve Doku Kültürü Denemeleri

#### Kültür Ortamının ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması

Çalışmada besi ortamı olarak temel besi ortamı olan MS kullanılmıştır. 1 L ortam için 4,4 g L<sup>-1</sup> MS besi yerine ilave olarak 30 g süktroz, 6,3 g agar eklenmiştir. Besi ortamı hazırlandıktan sonra pH 5,75'e ayarlanmıştır.

1 mg mL<sup>-1</sup> BAP stok çözeltinin hazırlanması için, 50 mL distile su içerisine 100 mg BAP tartılmıştır. İçerisine 1N HCl'den 2-3 mL ilave edilip manyetik karıştırıcıda eriyene kadar karıştırılmıştır. BBD'sinin hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır. 2 mg mL<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> stok çözeltisi için, 100 mL distile su içerisine 200 mg GA<sub>3</sub> tartılıp hepsi eriyinceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. DS çözeltileri de stok çözeltilerden 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranında sulandırılarak kullanılmıştır.

Doku kültürü uygulamalarının tümü aseptik koşullar altında yapılmış olup, bunun için laminar akışlı ve HEPA filtreli steril kabin kullanılmıştır. Besi ortamları sterilizasyondan sonra kabin içerisine alınarak deney grupları için içerisine BAP, GA<sub>3</sub> ve DS eklenmiştir. Besi ortamları her bir magenta kabına 40-50 mL olacak şekilde pay edilmiştir. Çalışmalar ilk olarak DS ile denenmiştir, optimizasyon sağlandığı takdirde KAR1 denemeleri ona göre kurulmuştur.

Doku kültürü çalışmaları için farklı denemeler kurulmuştur;

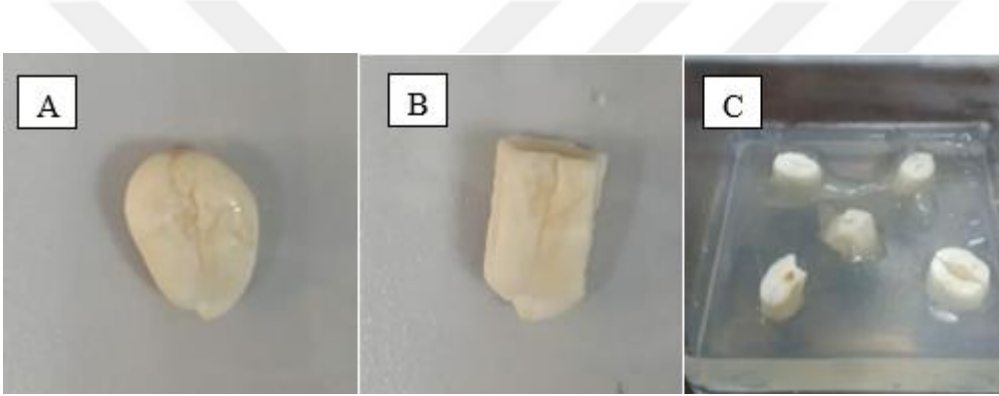
1. Tohumlar 2, 4, 8 ve 12 hafta 4 °C'de bekletilerek farklı sürelerdeki soğukta katlamanın (vernalizasyon) etkisi incelenmiştir. Besi ortamına DS ve bitki büyüme düzenleyicileri eklenmemiştir.

2. Tohumlar endokarp kısmı kırılmadan 9 gün boyunca steril saf suda bekletildikten sonra sterilizasyon işlemi uygulanıp besi ortamına ekimi sağlanmıştır. Soğukta katlama ihtiyacı için besi ortamına GA<sub>3</sub> eklenmiştir ve çimlenmeye etkisi incelenmiştir (Shah vd., 2013).

3. 12 hafta soğukta katlamada yüksek oranda çimlenme elde edildiği için soğukta katlama+BAP'ın ve DS'nin çimlenmeye etkisi incelenmiştir.

### **Kayısı Tohumlarının Besi Ortamına Ekimi**

Kayısı tohumlarının tam ya da yarım olarak kullanılıp kullanılmayacağına literatür taramasından sonra karar verilmiştir. Literatürde de belirtildiği gibi çimlenmenin daha kolay olması ve kotiledonların daha kolay ayrılması için yarım tohum kullanımına karar verilmiştir (Yıldırım, 2006) (Şekil 4). Bazı tohumlar testa kısmı soyulurken ikiye ayrılmıştır, onların da embriyo taşıyan kısmı kullanılmıştır. Tohumlar 5 tekrarlı olacak şekilde her magenta kabına 5 tohum gelecek şekilde ekilmiştir.



Şekil 4. A: Tam tohum, B: Yarım tohum, C: Tohumların besleme kabına ekimi.

Kültür kapları  $25\pm 2$  °C'ye ayarlı iklimlendirme kabinde optimum koşullar sağlanarak muhafaza edilmiştir. 1 hafta sonra çimlenen tohumlar, 2 hafta sonra ise sürgün geliştiren tohumlar sayılmıştır.

### **3.2.5. Tohumların Çimlendirilmesi ve *In Vivo* Ortama Aktarılması**

Doku kültürü çalışmalarındaki denemelerde bazı problemlerden dolayı sürdürülebilirlik sağlanamadığı için çalışmaya *in vivo* olarak devam edilmiştir. Çalışmada doku kültürü denemelerinde de başarı sağlanan soğukta katlama işlemi için  $4\pm 1$  °C'de 12 hafta bekletilmiş tohumlar kullanılmıştır. Tohumların ekim işlemi aseptik koşullar altında yapılmış olup, bunun için laminar akışlı ve HEPA filtreli steril kabin kullanılmıştır. Steril edilen tohumların testa kısmı soyulduktan sonra içine filtre kağıdı yerleştirilmiş petri

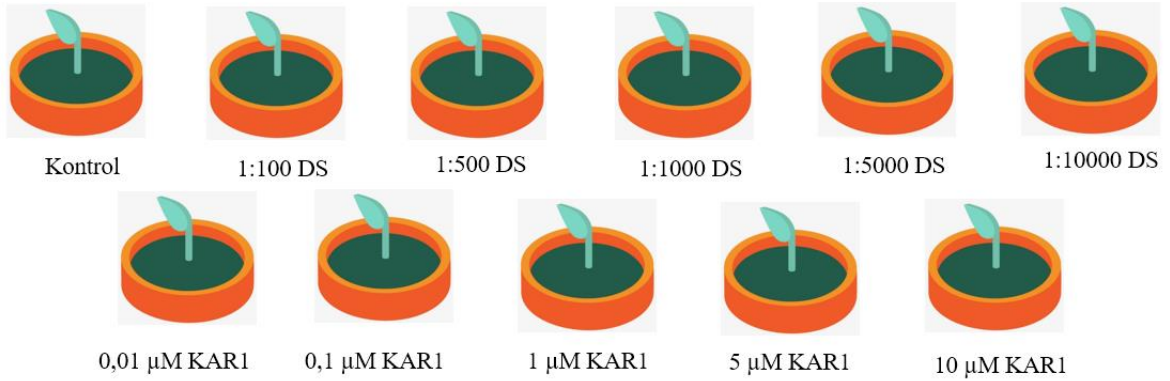


kaplarına aktarılmıştır (Şekil 5). Tohumlar 10 tekrarlı olacak şekilde her petri kabına 5 tohum gelecek şekilde ekilmiştir.



Şekil 5. Tohumların petri kaplarına ekim işlemi.

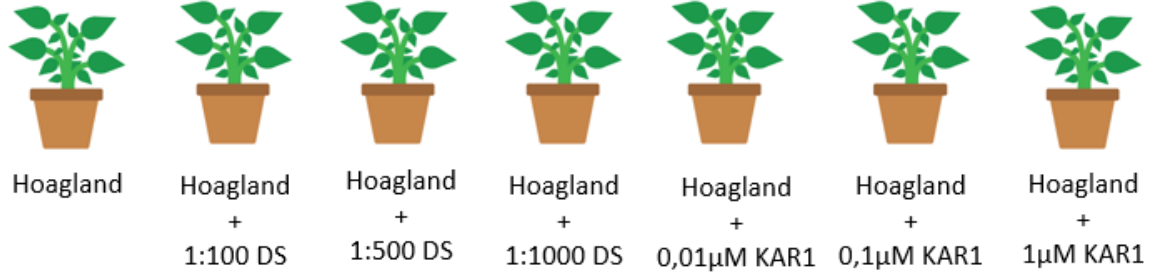
Ekim işleminden sonra deney gruplarına göre her biri ayrı ayrı önceden hazırlanan solüsyonlarla ıslatılmıştır (Şekil 6). Kontrol grubu sadece steril saf su ile ıslatılmıştır. Nemli filtre kağıtlarının kurumasını engellemek için petri kaplarının etrafı streç film ile sarılmıştır. Tohumlar çimlenene kadar  $4\pm 1$  °C’de (soğukta nemli katlama) ve karanlık koşullar altında muhafaza edilmişlerdir.



Şekil 6. Çimlendirme çalışması için hazırlanan deney grupları (DS: duman suyu, KAR1: karrikin1 maddesi).

Tohumlar 1 hafta sonra çimlenmiş olup perlit ve torf karışımı içeren viyollere (24 gözlü) 4 tekrarlı olacak şekilde aktarılmıştır. Bitkiler  $24 \pm 1$ ’de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık uzun gün fotoperiyoduna sahip iklimlendirme odasında yetiştirilmiştir. Viyoller

toprağın kuruluşuna göre her biri ayrı ayrı Hoagland (%100-Himedia TS1117)+deney gruplarında kullanılan solüsyonlarla düzenli olarak 2-3 günde bir sulanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Viyollere aktarılan deney grupları.

### 3.2.6. Morfolojik Parametreler

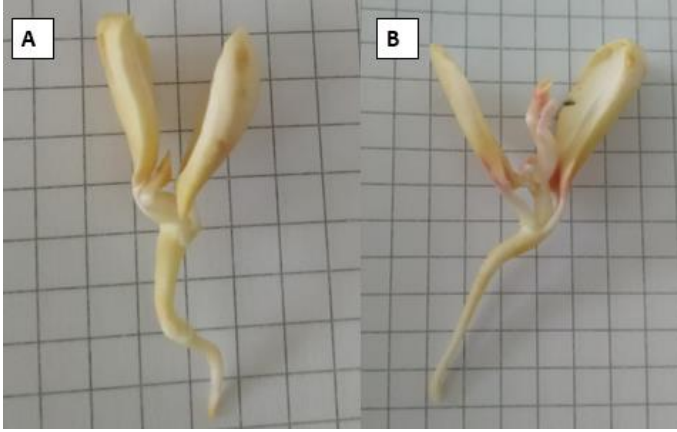
Morfolojik parametreler için bitkilerin 1 ay gelişimleri sağlandıktan sonra istatistik analizler için ölçümler yapılmıştır.

#### Çimlenen Tohum

Ekilen olgun kayısı tohumlarının 1 haftalık kültürü sonunda, petrilerdeki çimlenen tohum sayısının, deneyde kullanılan toplam tohum sayısına oranı ile bulunmuş ve yüzde olarak ifade edilmiştir.

#### Sürgün Geliştiren Tohum

Ekim işleminin ardından 2 hafta sonra sürgün gelişimi gerçekleşmiştir (Şekil 8). Sürgün geliştiren tohum sayısının çimlenen toplam tohum sayısına oranı ile bulunmuş ve yüzde olarak ifade edilmiştir.



Şekil 8. A: Çimlenen tohum, B: Sürgün geliştiren tohum.

### **Kök-Gövde Uzunluğu**

Gelişen sürgünlerdeki kök ve gövde uzunluğunun dijital kumpas ile ölçülerek ortalamasının alınması ile kaydedilmiştir.

### **Gövde Çapı**

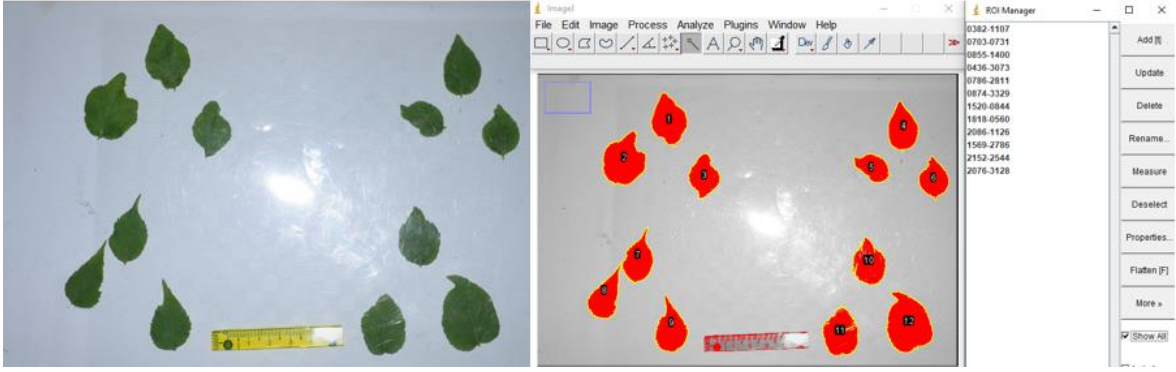
Gövde üzerinden toprağın değdiği eksenin 2 cm yukarisından dijital kumpasla ölçülerek belirlenmiştir.

### **Bitkilerdeki Yaprak Sayısı**

Her bir bitki üzerindeki yaprakların sayılıp ortalamasının alınması ile belirlenmiştir.

### **Yaprak Alanı**

Bitkilerin 1 aylık gelişimlerinin ardından gövdenin orta kısmındaki gelişmiş 3 yaprak alınıp 4 tekrarlı olacak şekilde ortalarına cetvel konularak ImageJ bilgisayar programında alanları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. ImageJ bilgisayar programı ile yaprak alanının ölçülmesi.

### 3.2.7. Toprak Analizi

Toprak tuzluluğunun tayini için Iğdır merkezde bulunan Melekli köyündeki Iğdır Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezindeki (TUAM) kayısı bahçesindeki kayısıların kök bölgesinden toprak örnekleri alınmıştır. Toprak örnekleri tohum temin edilen ağacın çevresinden üç farklı bölgeden 30-40 cm derinlikten alınmıştır. Toprak örnekleri laboratuvara getirilerek 100 g toprak 500 mL suda 15 dk. bekletilmiştir. Yüzeide kalan su filtre kağıdından geçirilerek arazi tipi EC metre (Milwaukee CD611) ile EC değeri ve pH değerleri ölçülmüştür.

### 3.2.8. Tuz Stresi Uygulaması

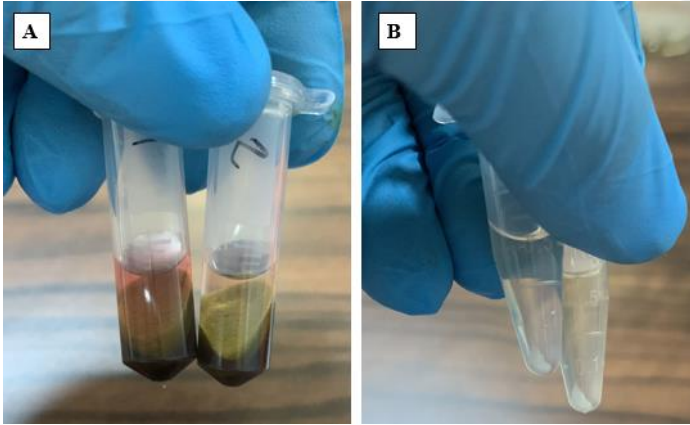
Toprak tuzluluğu analizi sonucunda elde edilen değere göre 100 mM tuz uygulamasının Iğdır şartlarında kayısı bitkisinin strese girmesi için uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Bir aylık gelişimlerini tamamlayan bitkilerin olduğu her bir viyol 100 mM konsantrasyonda hazırlanan NaCl (Bioshop SOD004) solüsyonu ile sulanmıştır. Örnekleme 0. (kontrol), 3., 6., ve 9. saatlerde yapraklar ependorflara alınarak sıvı azota daldırılmış ve gen anlatımı çalışması için kullanılabilecek kadar -20°C sıcaklıkta muhafaza edilerek yapılmıştır.

### 3.2.9. Gen Anlatımı Uygulamaları

Gen anlatımı uygulaması deney gruplarından morfolojik olarak en iyi hangi konsantrasyon daha etkili olduysa onunla gerçekleştirilmiştir.

## Total RNA İzolasyonu

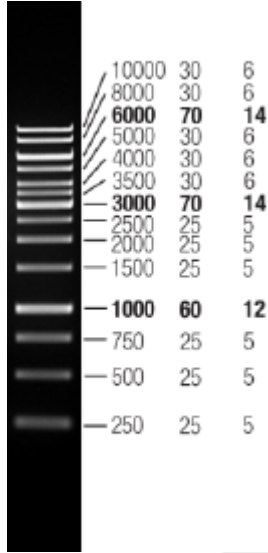
Çalışmaya başlanmadan önce kullanılacak tüm malzemeler 1,2 atmosfer basınç altında 121 °C sıcaklıkta 15 dk. süre boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Çalışma TRIzol (Thermo Fisher Scientific USA-Cat: 15596018) ile üreticinin protokolü modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yaklaşık 100 mg'lık doku örnekleri sıvı azot içeren porselen havan içerisinde 700 µL TRIzol ile homojenize edilerek, 5 dk. oda sıcaklığında bekletilip üzerine 0,2 mL kloroform eklenmiştir. Daha sonra 15 sn tüpler elle kuvvetlice çalkalanmış ve 2-3 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. +4 °C'de 15.000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildikten sonra üst faz steril bir tüpe aktarılmış ve üzerine 350 µL izopropanol alkol eklenip RNA'lar çöktürülmüştür (Şekil 10).



Şekil 10. A: Homojenize edilmiş dokuların santrifüj edildikten sonraki hali, B: Çökelen RNA parçası.

10 dk. 14000 rpm'de +4 °C'de santrifüj edilerek üst faz dikkatli bir şekilde uzaklaştırılıp, 750 µL %70'lik etanol pelletin üzerine ilave edilip pelletin yüzmesi sağlanmıştır. Ardından 5 dk. 10000 rpm'de +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra RNA çöktürülmesi için etanol uzaklaşmaya kadar 5-10 dk. kurumaya bırakılmıştır. RNA çöktürülmesi için 30 µL steril su ile çözülüp 8-10 dk. 55 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra Qubit cihazı ile RNA konsantrasyonu ve kalitesi kontrol edilmiş, %2'lik agaroz jel (Bioshop-Cat: AGA501.50) elektroforezi ile de RNA bütünlüğü ve degradasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir. Elektroforezde 108 g/L tris, 55 g/L borik asit ve 7.5 g/L EDTA ile hazırlanan TBE tamponu (pH:8,0) ve 120 mL jel içerisinde 6 µL Red Safe DNA boyası kullanılmıştır. İzole edilen RNA ve marker (GeneRuler 1kb DNA Ladder, Thermo Scientific, SM0311) 6X yükleme

tamponu ile karıştırılıp kuyucuklara yüklenmiştir ve elektriksel alanda yürütülmüştür. Kullanılan markerın haritası Şekil 11’de verilmiştir. Elektroforez sonunda jel UV ışık altında görüntülenmiştir.



Şekil 11. Kullanılan markerın haritası.

### cDNA Sentezi

cDNA sentez işlemi öncesinde genomik DNA (gDNA) kontaminasyonunun engellenmesi için bir önceki adımda elde edilen ve sağlam olduğu tespit edilen RNA izolatlarına DNase 1 enzimi (Thermo Scientific, USA) kit protokolüne göre uygulanmış ve ortamdaki DNA ortadan kaldırılmıştır. Bunun için 1000 ng RNA üzerine, 1µL 10Xbuffer, 1µL DNase ve nükleaz içermeyen su (NFW) eklenerek hacim 10 µL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra PZR cihazında 37 °C'de 30 dk. inkübe edilmiştir. İşlem bittikten sonra üzerine 1 µL EDTA eklenerek tekrar PZR cihazında 65 °C'de 10 dk. inkübasyonu sağlanmıştır.

Daha sonra komplementer DNA (cDNA) sentezi High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Thermo Scientific, USA) ticari cDNA sentez kiti kullanılarak üretici tarafından sağlanan protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 3). Bunun için buz aküsü üzerinde PZR tüpünün içerisine 2 µL buffer, 0,8 µL dNTP, 2 µL random primer, 1 µL enzim ve 4,2 µL NFW karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım üzerine 10 µL RNA

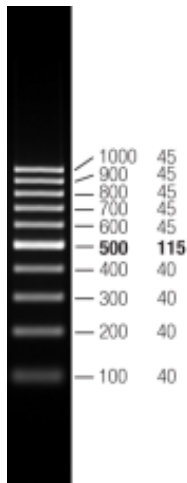
eklenerek vortex yapılmış ve ardından santrifüj ile çöktürülmüştür. cDNA sentezi için PZR profili Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3

cDNA sentezi için kullanılan PZR profili

	Adım 1	Adım 2	Adım 3	Adım 4
Sıcaklık (°C)	25	37	85	4
Süre (dk)	10	120	5	∞

cDNA sentezinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin teyidi için Actin (ACT) geni ile PZR yapılmıştır ve agaroz jel elektroforezi ile bölgenin çoğaldığı teyit edilmiştir. ACT için PZR tüpünün içerisine 10Xmaster mix’den 6,60 µL (Thermo Scientific, USA), NFW 90 µL, 10Xbuffer 13,20 µL, 10 mM dNTP 2,64 µL, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 10,56 µL, DMSO 2,64 µL, 10 µM primer 1 2,64 µL, 10 µM primer 2 2,64 µL, 5µ Taq 1,06 µL (Thermo Scientific, USA) hazırlanıp 19 µL karışım içerisine 1 µL kalıp cDNA konulmuştur. ACT geni PZR profili için ilk denatürasyon 95 °C 1 dk, daha sonra 35 döngü boyunca 95 °C 30 sn, 54 °C 45 sn, 72 °C 1dk., son uzama ise 72 °C 15 dk. olarak oluşturulmuştur. cDNA ve marker (GeneRuler 100bp DNA Ladder, Thermo Scientific, SM0241) 6X yükleme tamponu ile karıştırılıp kuyucuklara yüklenmiştir ve elektriksel alanda yürütülmüştür. Kullanılan markerın haritası Şekil 12’de verilmiştir. Elektroforez sonunda jel UV ışık altında görüntülenmiştir. cDNA’lar önce primerlerin verimlilikleri için daha sonra ise gen anlatımı çalışmalarında kullanılmıştır.



Şekil 12. Kullanılan markerın haritası.

## Referans genlerin seçimi, primer tasarımı ve verimlilik çalışmaları

Gen anlatımı çalışmalarında normalizasyon için literatürde *P. mume* (Japon kayısı) türünde abiyotik stres şartlarında en stabil gen olarak belirlenen actin (ACT) geni kullanılmıştır (Wang vd., 2014). CAT, SOD ve GPX enzimlerini kodlayan genler için gerekli primerleri tasarlamak için Geneious R8 Kearse vd., (2012) yazılımı kullanılmıştır. Bu amaçla ilk önce genomu dizilenmiş ve birleştirilmiş olan ve kayısıya (*P. armeniaca*) filogenetik açıdan en yakın tür olan şeftaliye ait (*P. persica*) genoma Phytozome V12.1 veri tabanından erişilmiştir. Veri tabanında CAT, SOD ve GPX enzimlerini kodlayan gen bölgelerine ait transkript dizileri indirilerek Geneious R8 yazılımı içerisine alınmıştır ve yazılım içerisindeki primer tasarımı eklentisi ile her bir gen için 3'er adet primer çifti tasarlanmıştır (Tablo 4). Tasarım sırasında optimum Tm sıcaklığının yaklaşık 59 °C olması, primerler arasındaki Tm farkının 5 °C'den fazla olmaması, optimum ürün boyutunun yaklaşık 120bp olması, ekzon birleşme (exon junction) bölgelerini kapsamaması, saç tokası ve kendi üzerine katlanma sıcaklıklarının qPCR profilindeki sıcaklıklarda olmaması gibi şartlara dikkat edilmiştir.



Tablo 4

## Referans gen ve primer dizileri

Gen adı	Primer dizileri (İleri/Geri, 5'→3')	T <sub>m</sub> (°C)	Tahmini ürün boyutu (bç)	Uzunluk (bç)	%GC	Referans
Actin	CCCTAAGGCTAACAGAGAAAAGA	59,2	212	23	43,5	Wang vd., (2014)
	CAGCAAGGTCCAGACGAAGAAT	57,4		22	50,0	
Katalaz	CTCATACTGGTCTCAGGCAGA	58,62	116	21	52,4	
	CCCCTGCTGGGAACTCAAA	60,18		20	55,0	
	TCTCATACTGGTCTCAGGCAG	58,62	117	21	52,3	
	CCCCTGCTGGGAACTCAA	59,54		19	57,8	
	TCATACTGGTCTCAGGCAGATAAA	59,04	118	24	41,7	
	TTGCCCTGCTGGGAACT	61,77		19	57,8	
Süperoksit dismutaz	CCACATCGGCATAACATCCG	59,13	119	20	55,0	Geneious R8 yazılımında tarafımızca tasarlanmıştır (Kearse vd., 2012)
	TGGTTCAACGTGATCTCAGAA	57,26		21	42,9	
	GGAGATGGCCCAACTACTGT	59,1	120	20	55,0	
	GAAATGCGGTCCAGTTGACA	58,8		20	50,0	
	AACCAACGGTTGCTTGTCAA	58,8	120	20	45,0	
	CCATCGTCCCCAACAGTGAT	59,7		20	55,0	
Glutasyon peroksidaz	ACGTGGCTTCAAAAATGGGATTGA	61,76	128	24	41,67	
	AGGCTCTTGGCCCCAAA	61,19		18	61,11	
	ACGGGTCTCTTTGAAATCACC	58,85	129	22	45,45	
	CCTTTCCGTCAATATCCTTGACAC	59,67		24	45,83	
	AGGTGACCTTGTC AAGTGGAA	59,16	119	21	47,62	
	CCAGTTTCTGGATATCCCTCTCAA	59,59		24	45,83	

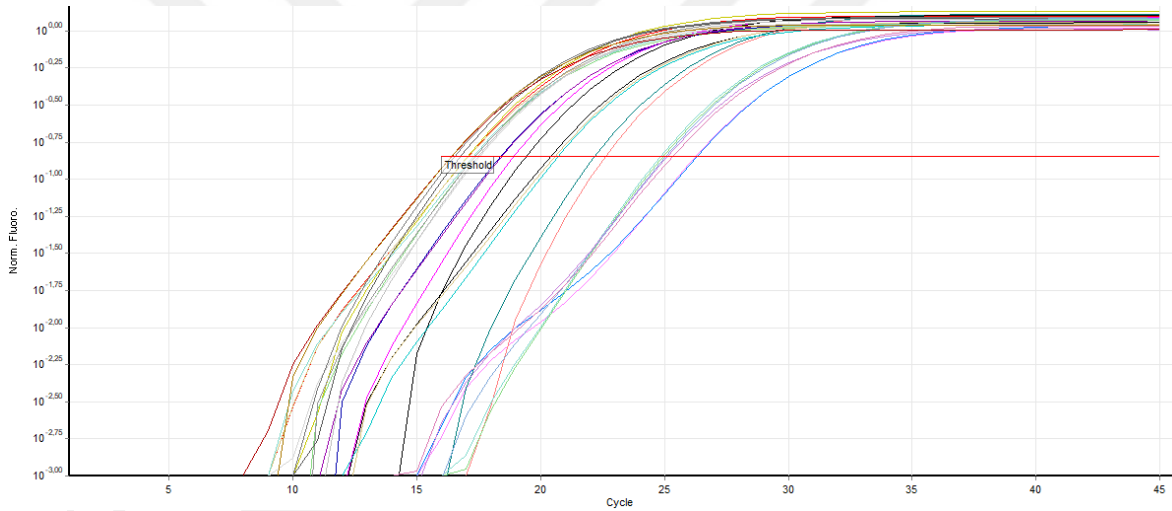
*T<sub>m</sub>*: Erime sıcaklığı. *GC*: Guanin ve sitozin oranı, *bç*: Baz çifti

qPZR primerlerinin %100 verimlilikte çalışması için kullanılmadan önce verimlilik testinin yapılması gerekmektedir. Bunun için yaprak RNA'larından sentezlenen cDNA kalıp olarak kullanılmıştır. Her biri diğerinden 10'er kat 6 kez seri sulandırılan cDNA kullanılarak qPZR reaksiyonu kurulmuştur. Çalışmada kullanılan reaksiyon karışımına 5 µL SYBR Green Master Mix (RealQ Plus 2x Master Mix Green – Ampliqon, A324402), her bir primerden 0,5 µL, 1 µL (10 ng) kalıp cDNA ve 3 µL su eklenmiştir. Bu çalışmalar 3 teknik tekrara göre yapılmıştır. Sonuçlar ise  $\Delta\Delta Cq$  (Eşik değeri) yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Eşik değeri döngüleri ( $Cq$ , Threshold cycle) Rotor-Gene Q Series Software 2.3.5 yazılım programı kullanılarak belirlenmiştir. RT-qRZR sonuçlarına göre çalışılan her bir gene özgü  $Cq$  değerlerinin ortalamasına karşı, tahmini kopya sayılarının logaritması kullanılarak standart eğriler çizilmiştir. Çizilen eğrilerin eğimi ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) hesaplanarak bu değerlerin 1'e yakın olması dikkate alınmıştır. Verim için kullanılan formül  $Verim = (10^{(-1/eğim\ değeri)} - 1) \times 100$ 'dür (Dorak, 2007). Araştırmada  $R^2$  değeri 0,98'den yüksek olan ve verimlilik aralığı %90-110 olan primerler kullanılmıştır. Ürün özgünlüğü için ilgili bölge dışında bir bölgenin çoğalmadığını göstermek için SYBR Green boyası kullanılarak

yapılan erime eğrisi analizinde tek bir pik görmek gerekmektedir. Bu da primer seçiminde dikkate alınan kriterler arasındadır.

### Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)

Kayısı bitkisinde CAT, SOD ve GPX enzimlerini kodlayan genlerin anlatımlarını belirlemek için SYBR Green boyası kullanılarak Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu çalışmaları yapılmıştır. SYBR Green çift iplikli DNA'ya bağlanan floresan boyadır ve PZR ürünleri belirli bir yoğunluğa ulaştıktan sonra (3 ile 15. döngüden sonra) boyanın yaydığı floresan miktarı her döngüde iki katına çıkmaktadır. Buna PZR'unun üssel fazı (exponential phase) denilmektedir (Dorak, 2007) (Şekil 13).



Şekil 13. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu için örnek çoğalma eğrisi.

30 ve 35. döngülerden sonra genel olarak PZR plato fazına geçmektedir. Rotor-Gene Q Series Software 2.3.5 yazılım programı kullanılarak üssel fazın orta noktasına göre eşik değeri (Threshold cycle, Cq) belirlenmiştir. Sonraki analizde ise bu Cq değerine göre yapılmıştır.

Kayısı bitkisinin yaprak dokusu kullanılarak cDNA'lar elde edilmiş ve RT-qPZR'da kullanılarak reaksiyonlar kurulmuştur (Tablo 5). RT-qPZR çalışmaları 3 biyolojik 3 teknik tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5

RT-qPZR bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşen	Miktar	Final Konsantrasyon
Ampliqon RealQ Plus 2x	5 µL	1x
Master Mix Green		
Forward primer	0,5 µL	0,2 µL
Reverse primer	0,5 µL	0,2 µL
Kalıp cDNA	1 µL	10 ng
Nükleaz içermeyen su	3 µL	-
<b>Toplam</b>	<b>10 µL</b>	

Reaksiyonlar her bir tüpün son hacmi 10 µL olacak şekilde 72 kuyucuklu plate'lere yerleştirilerek kurulmuştur. Daha sonra bu plate'ler Rotor-Gene Q 5plex HRM (Cat. No. / ID: 9001580) cihazına yerleştirilerek Tablo 6'daki PZR koşulları sağlanmıştır.

Tablo 6

RT-qPZR için kullanılan PZR profili

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
95	15 dk	1
95	20 sn	
60	30 sn	45
72	30 sn	

SYBR Green sayesinde spesifik olmayan ürünler ya da primer dimerleri de PZR sırasında ışımaya yapmaktadır. Bu yüzden PZR çalışmasının sonunda bu spesifik olmayan ürünlerin varlığına melt cure analizi ile bakılmıştır. Ürün özgünlüğü kontrolü için erime eğrisi analizi 65-90 °C arasında gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın artması ile birlikte çift iplikli DNA açılmaya başlar ve ürünler Tm derecelerine ulaştıklarında SYBR Green boyasının salınımına bağlı olarak floresan miktarında bir düşüş oluşmaktadır. Eğer bu erime eğrisinde tek bir pik var ise RT-qPZR'nun tek bir ürün oluşturduğu anlamına gelmektedir. Çalışmada ayrıca kontrol için -RT kontrol (revers transkriptaz enziminin bulunmadığı) ve negatif kontrol (kalıp kullanılmayan) reaksiyonları da kurulmuştur. Normalizasyon için de actin (ACT) geni kullanılmıştır (Wang vb., 2014). Gen anlatımının değerlendirilmesi için  $2^{-\Delta\Delta CT}$

metodu kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001). Veriler ise Rotor-Gene Q Series Software 2.3.5 yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir.

### **3.2.10. Biyokimyasal Analiz**

#### **Lipit Peroksidasyonu Miktarının Belirlenmesi**

Bitki örnekleri %0,1'lik trikloroasetik asitte (TCA) homojenize edilmiş ve ardından 10.000 xg'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Süpernatanta %0,5 tiobarbitürik asit (TBA) ve %20 TCA içeren reaksiyon karışımı eklendikten sonra 95 °C'de 30 dk. boyunca sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Ardından buz banyosunda soğutulduktan sonra 10.000 xg'de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar 532 nm ve 600 nm absorbanslarda ölçülmüş ve  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır (Madhava Rao ve Sresty, 2000).

### **3.2.10. İstatistiksel Analizler**

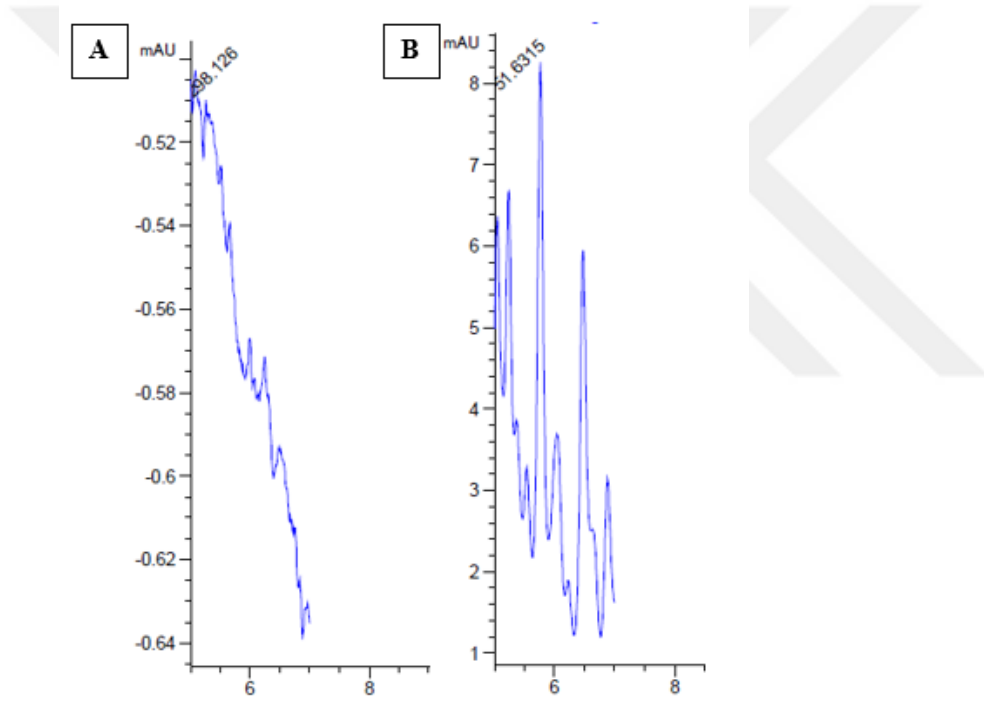
Araştırmadan elde edilen verilerin hepsi tesadüf parselleri deneme desenine göre XLSTAT 2021 istatistik paket programında ANOVA yapılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak önemli bulunan işlemler belirlendikten sonra ortalamalar arasındaki farklar  $p=0,05$  seviyesinde Duncan testi ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olacak şekilde tablo olarak verilmiştir. Morfolojik verilerdeki istatistik Rstudio yazılımında tidyverse ve Hmisc kütüphaneleri kullanılarak pearson korelasyon yapılmıştır.

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

#### 4.1. HPLC Bulguları

HPLC ile DS'nin içeriğindeki KAR1 miktarını ölçmek için cihaz kütüphanesine eklenen KAR1 maddesi 4,287 dk.'de pik vermiştir (Şekil 14A). Daha sonra DS'nin içerisindeki KAR1 miktarını ölçmek için DS cihaza tanıtılmıştır ve 4,328 dk.'de 8,70398 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  KAR1 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 14B).



Şekil 14. A: KAR1 maddesinin pik zamanı (retetion time), B: DS'nin pik zamanı (retetion time).

#### 4.2. Tohum Sterilizasyonu ile İlgili Bulgular

“Şalak” kayısı çeşidine ait tohumların yüzey sterilizasyonu için NaOCl'in %10, 15 ve 20'lik konsantrasyonlarının etkisi ve farklı maruz kalma süreleri 10,15 ve 20 dk. test edilmiştir. İstatistiksel veriler Tablo 7'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan NaOCl'in farklı konsantrasyonları ve farklı süreler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık

bulunmaktadır ( $P<0,05$ ). Yapılan çalışmada %20 NaOCl + 15 dk. uygulamasının %12 kontaminasyon ile yüzey sterilizasyonu için yeterli olacağı sonucuna varılmıştır. Çalışmanın diğer kısımlarında da tohum sterilizasyonu için uygun olan %20 NaOCl + 15 dk. konsantrasyon ve süre kullanılmıştır. %20 NaOCl + 20 dk. uygulamasında kontaminasyon yüzdesi %10 ile düşük bulunmasına rağmen tohum çimlenmesi %66 ile %20 NaOCl + 15 dk. uygulamasına göre (%88) düşük düzeyde gerçekleşmiştir.

Tablo 7

Tohumların yüzey sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının ve sürelerinin etkisi

Sterilizasyon Numarası	Kontaminasyon (%)	Çimlenme (%)
Kontrol	88,90±0,335 <sup>a</sup>	15,56±0,391 <sup>f</sup>
1	86,00±0,229 <sup>a</sup>	30,00±0,250 <sup>e</sup>
2	76,00±0,374 <sup>b</sup>	46,00±0,502 <sup>d</sup>
3	68,00±0,245 <sup>b</sup>	50,00±0,512 <sup>d</sup>
4	74,00±0,391 <sup>b</sup>	48,00±0,320 <sup>d</sup>
5	66,00±0,229 <sup>b</sup>	52,00±0,600 <sup>cd</sup>
6	52,00±0,332 <sup>c</sup>	54,00±0,450 <sup>cd</sup>
7	46,00±0,502 <sup>c</sup>	62,00±0,350 <sup>bc</sup>
8	12,00±0,332 <sup>d</sup>	88,00±0,245 <sup>a</sup>
9	10,00±0,250 <sup>d</sup>	66,00±0,320 <sup>b</sup>
	<b><math>P&lt;0,0001</math></b>	<b><math>P&lt;0,0001</math></b>

#### 4.3. Doku Kültürü Denemeleri için Çimlenen ve Sürgün Geliştiren Tohum ile İlgili Bulgular

1. Deneme ile ilgili bulgularda 2 hafta soğukta katlamaya bırakılan tohumlarda herhangi bir çimlenme meydana gelmemiştir. 4 ve 8 hafta soğukta katlamaya bırakılan tohumlarda ise sadece bir tohumda çimlenme meydana gelmiştir. 12 hafta soğukta katlamaya bırakılan tohumlarda ise %45 oranında bir çimlenme meydana gelmiştir. 12 hafta bekletmenin çimlenmeye etkisi yüksek olduğu için çalışmanın diğer basamaklarında bu tohumların kullanılması uygun bulunmuştur.

2. Denemede 2 mg mL<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>+9 gün suda bekletmenin etkisi incelenmiştir. Bu denemede sadece bir tohumda çimlenme meydana gelmiştir. Bir ay boyunca gelişimleri gözlenmiş fakat herhangi bir gelişme olmamıştır.

3. Denemede 12 hafta soğukta katlama ve BAP'ın etkinliği incelenmiştir. Bununla ilgili çimlenme verileri Tablo 8'de verilmiştir.

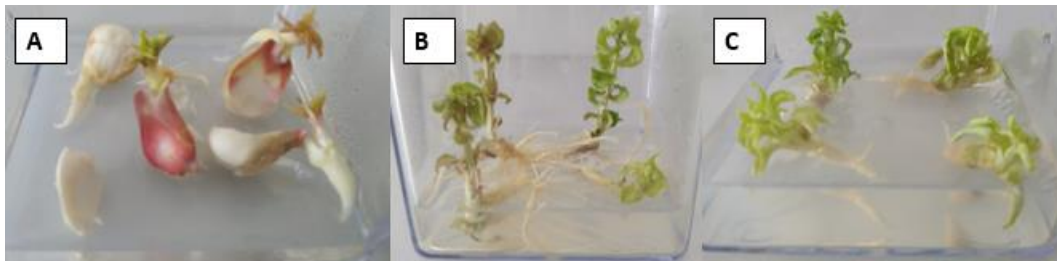
Tablo 8

Doku kültürü denemelerinde DS ve BAP'ın çimlenme üzerine etkileri

Deney Grupları	Çimlenen Tohum (%)
Kontrol	39,29+0,378 <sup>bc</sup>
BAP	49,05+0,598 <sup>b</sup>
1:100 DS	21,43+0,416 <sup>cd</sup>
1:500 DS	75,00+0,440 <sup>a</sup>
1:1000 DS	50,00+0,378 <sup>b</sup>
1:100 DS+BAP	14,29+0,247 <sup>d</sup>
1:500 DS+BAP	75,71+0,440 <sup>a</sup>
1:1000 DS+BAP	50,00+0,463 <sup>b</sup>

**P<0,0001**

Ekimden bir hafta sonra çimlenen tohumlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Şekil 15). Deney grupları arasındaki analize göre çimlenen tohum oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Çimlenme yönünden en yüksek oran %75,71 ile 1:500 DS+BAP olurken, en düşük oran ise %14,29 ile 1:100 DS+BAP olmuştur. Yapılan istatistik analize göre BAP'ın çimlenmeye etkisi olmadığı görülmektedir.



Şekil 15. A: 1:500 DS'nin çimlenmeye etkisi, B: 1:500 DS'nin sürgün gelişimine etkisi, C: 1:500+BAP'ın sürgün gelişimine etkisi.

Ekimden iki hafta sonra sürgün geliştiren tohumlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sürgün geliştiren tohum oranları bakımından deney grupları arasındaki istatistiksel fark önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Tablo 9).

Tablo 9

Doku kültürü denemelerinde DS ve BAP'ın sürgün gelişimi üzerine etkileri

Deney Grupları	Sürgün Gelişimi (%)
Kontrol	32,14+0,580 <sup>cd</sup>
BAP	50,00+0,495 <sup>bc</sup>
1:100 DS	21,43+0,319 <sup>cd</sup>
1:500 DS	75,00+0,562 <sup>ab</sup>
1:1000 DS	17,86+0,226 <sup>cd</sup>
1:100 DS+BAP	14,29+0,247 <sup>d</sup>
1:500 DS+BAP	89,29+0,247 <sup>a</sup>
1:1000 DS+BAP	32,14+0,515 <sup>cd</sup>

**$P<0,0001$**

Çimlenen tohumlardaki sürgün oluşturma oranları bakımından en iyi sonucu %89,29 ile 1:500 DS+BAP verirken, en düşük sonucu ise %14,29 ile 1:100 DS+BAP vermiştir. DS sürgün gelişim bakımından BAP kadar etkili olmuştur ve oranlar birbirlerine çok yakın çıkmıştır. Çimlenen tohumların köklerinde ekimden iki hafta sonra kararma ve kahverengileşme meydana gelmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Köklerde meydana gelen kararma ve kahverengileşme.

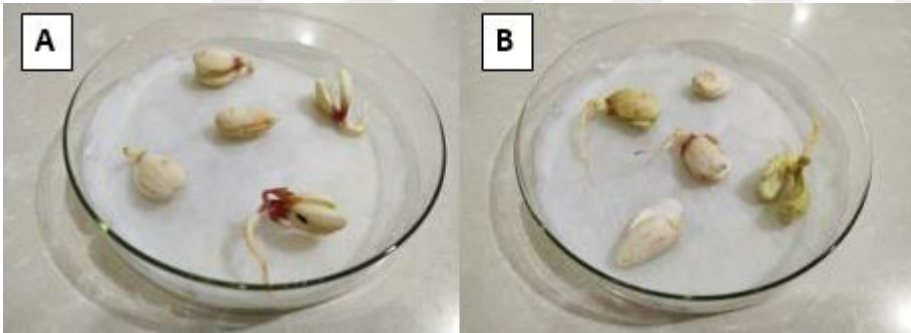


Bu da çalışmanın bir sonraki aşaması olan tuzluluk stresi uygulamasını mümkün kılmamıştır. Literatür taramasına göre, köklerde biriken fenolik bileşiklerin buna neden olduğu yönündedir (Thomas, 2008). Bunun için ise aktif karbon kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Bir diğer seçenek ise kullanılan besi yerinin içeriğinden ve tuz miktarından kaynaklı olabileceği yönündedir. Bütün bu faktörler değerlendirilmiştir fakat doku kültürü çalışmalarının devam edemeyeceğine karar verilmiştir. Bir sonraki aşamada çalışmanın devamlılığı için tohumlar çimlendikten sonra *in vivo* ortama aktarılmasına karar verilmiştir.

#### 4.4. Tohumların Çimlendirilmesi ve *In Vivo* Ortama Aktarılması Denemeleri için Morfolojik Parametre Bulguları

##### 4.4.1. Tohum Çimlenmesi ile İlgili Bulgular

Deney gruplarındaki tohumlar 3 gün sonra çimlenmeye başlamıştır. Bir hafta sonra ise çimlenme oranları belirlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. A: 1 µM KAR1 maddesinin çimlenmeye etkisi, B: 1:1000 DS'nun çimlenmeye etkisi.

Yapılan istatistik analiz sonucunda çimlenme bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Çimlenme yönünden en yüksek oran %60 ile 1:1000 DS ve %72 ile 1 µM KAR1 olmuştur (Tablo 10). Çalışma boyunca denenen konsantrasyonlarda DS maddesinde konsantrasyon azaldıkça çimlenmenin arttığı, KAR1 maddesinde ise konsantrasyon arttıkça çimlenmenin arttığı gözlemlenmiştir. Bunun için çimlenmede konsantrasyon optimizasyonu için DS grubunda 1:5000 ve 1:10000 konsantrasyonları ile KAR1 grubunda ise 5 µM ve 10 µM konsantrasyonlarda tekrar denemeler kurulup çimlenme oranları belirlenmiştir. Yapılan çalışmaya göre denenen konsantrasyonlarda çimlenmenin

azaldığı gözlenmiştir. Çimlenme yönünden DS grubunda 1:1000, KAR1 grubunda ise 1 µM konsantrasyonun kullanımının uygun olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 10

DS ve KAR1'in çimlenme üzerine etkileri

<b>Deney Grupları</b>	<b>Çimlenen Tohum (%)</b>
Kontrol	34,00+0,229 <sup>ef</sup>
1:100 DS	40,00+0,387 <sup>cdef</sup>
1:500 DS	50,00+0,403 <sup>bcd</sup>
1:1000 DS	60,00+0,387 <sup>ab</sup>
1:5000 DS	28,00+0,245 <sup>fg</sup>
1:10000 DS	30,00+0,512 <sup>fg</sup>
0,01 µM KAR1	46,00+0,229 <sup>bcd</sup>
0,1 µM KAR1	54,00+0,391 <sup>bc</sup>
1 µM KAR1	72,00+0,332 <sup>a</sup>
5 µM KAR1	38,00+0,350 <sup>def</sup>
10 µM KAR1	18,00+0,350 <sup>g</sup>

***P*<0,002**

## 2. Sürgün Geliştiren Tohum ile İlgili Bulgular

Ekilen tohumlarda 2 hafta sonra sürgün gelişimi meydana gelmiştir. Sürgün gelişim oranlarının değerlendirilmesi ekimden 1 ay sonra tuz stresi uygulamasından önce yapılmıştır (Şekil 18).



Şekil 18. Sürgün geliştiren ve gelişimlerini tamamlayan bitkiler.

Sürgün geliştiren tohum oranları bakımından deney grupları arasındaki istatistiksel fark önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Sürgün gelişimi bakımından DS grubundan en iyi sonucu %95,83 oran ile 1:100 konsantrasyon, KAR1 grubundan ise %87,50 oran ile 1  $\mu$ M konsantrasyon vermiştir (Tablo 11). Veriler kontrol ile kıyaslandığında aynı ve benzer istatistik grup içerisinde yer aldıkları gözlenmiştir. Veriler birbirine çok yakın çıkmıştır bariz bir fark yoktur.

Tablo 11

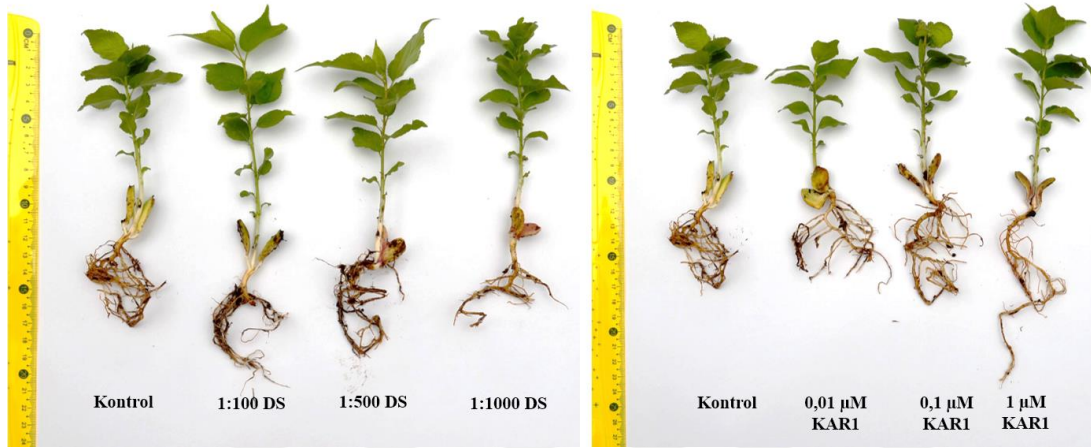
DS ve KAR1'in sürgün gelişimi üzerine etkileri

Deney Grupları	Sürgün Gelişimi (%)
Kontrol	77,27±0,400 <sup>bc</sup>
1:100 DS	95,83±0,186 <sup>a</sup>
1:500 DS	79,17±0,380 <sup>bc</sup>
1:1000 DS	85,42±0,400 <sup>ab</sup>
0,01 $\mu$ M KAR1	83,33±0,312 <sup>abc</sup>
0,1 $\mu$ M KAR1	68,75±0,462 <sup>c</sup>
1 $\mu$ M KAR1	87,50±0,250 <sup>ab</sup>

**$P<0,025$**

#### 4.4.3. Kök Uzunluğu ile İlgili Bulgular

Deney gruplarının köklenmeye etkisinin araştırıldığı bu çalışma 1 aylık gelişimlerini tamamlayan fideler üzerine yapılmıştır (Şekil 19). DS grubunda konsantrasyon azaldıkça kök uzunluğunda azalma meydana gelmiştir. KAR1 grubunda ise konsantrasyon arttıkça kök uzunluğunda artma meydana gelmiştir.



Şekil 19. Duman suyu ve karrikininin kök gelişimi üzerine etkileri.

Kök uzunlukları bakımından deney grupları arasındaki istatistiksel farklılık önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Kontrole kıyasla DS grubundan 137,68 mm ile 1:100 en iyi sonucu verirken, KAR1 grubunda ise 141,92 mm ile 1 µM KAR1 en iyi sonucu vermiştir (Tablo 12). Kök uzunluğu bakımından 1:1000 110,39 mm ile KAR1 grubundan ise 0,01 µM 104,31 mm ile kontrole göre daha az kök gelişimine katkıda bulunduğu belirlenmiştir.

Tablo 12

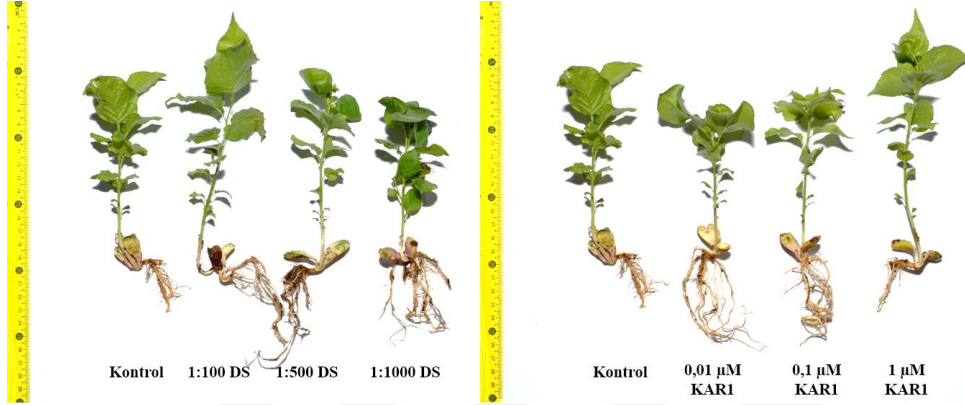
DS ve KAR1'in kök gelişimi üzerine etkileri

Deney Grupları	Kök Uzunluğu (mm)
Kontrol	129,06±0,830 <sup>abc</sup>
1:100 DS	137,68±0,701 <sup>a</sup>
1:500 DS	113,77±0,625 <sup>bcd</sup>
1:1000 DS	110,39±0,194 <sup>cd</sup>
0,01 µM KAR1	104,31±0,488 <sup>d</sup>
0,1 µM KAR1	136,30±0,862 <sup>ab</sup>
1 µM KAR1	141,92±0,143 <sup>a</sup>

**$P<0,002$**

#### 4.4.4. Gövde Uzunluğu ile İlgili Bulgular

Bir aylık gelişimlerini tamamlayan deney gruplarında gövde uzunluğu bakımından DS grubunda konsantrasyon azaldıkça gövde uzunluğunda azalma, KAR1 grubunda ise konsantrasyon arttıkça gövde uzunluğunda artma gözlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Duman suyu ve karrikinin gövde uzunluğuna etkileri.

Gövde uzunluğu bakımından deney gruplarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). DS grubunda 1:100 konsantrasyon 103,78 mm ile KAR1 grubunda ise 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyon 102,67 mm ile en iyi sonucu vermiştir (Tablo 13). DS grubunda 1:1000 konsantrasyon 78,87 mm ile KAR1 grubunda ise 0,01  $\mu\text{M}$  konsantrasyon 83,99 mm ile gövde uzunluğu gelişimine daha az katkıda buldukları gözlenmiştir.

Tablo 13

DS ve KAR1'in gövde uzunluğuna etkisi

Deney Grupları	Gövde Uzunluğu (mm)
Kontrol	90,90 $\pm$ 0,889 <sup>c</sup>
1:100 DS	103,78 $\pm$ 0,559 <sup>a</sup>
1:500 DS	81,90 $\pm$ 0,561 <sup>cd</sup>
1:1000 DS	78,87 $\pm$ 0,341 <sup>d</sup>
0,01 $\mu\text{M}$ KAR1	83,99 $\pm$ 0,226 <sup>cd</sup>
0,1 $\mu\text{M}$ KAR1	92,08 $\pm$ 0,200 <sup>bc</sup>
1 $\mu\text{M}$ KAR1	102,67 $\pm$ 0,254 <sup>ab</sup>

**$P<0,0001$**

#### 4.4.5. Gövde Çapı ile İlgili Bulgular

Gövde çapı üzerinde yapılan istatistik analiz sonucunda deney grupları arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Fakat verilere genel olarak bakıldığında kontrol ile diğer grupların hepsi aynı istatistik grup içerisinde yer almaktadır. Gövde çapı bakımından verilerde gözle görülür bir fark yoktur. KAR1 grubunda konsantrasyon arttıkça gövde çapında artış olduğu gözlenmiştir. KAR1 ve DS grubunda 2,26 mm ile sırasıyla 1  $\mu$ M ve 1:500 konsantrasyonlar en iyi sonucu vermiştir (Tablo 14).

Tablo 14

DS ve KAR1'in gövde çapı üzerine etkisi

Deney Grupları	Gövde Çapı (mm)
Kontrol	2,17±0,220 <sup>abc</sup>
1:100 DS	2,01±0,182 <sup>c</sup>
1:500 DS	2,26±0,283 <sup>a</sup>
1:1000 DS	2,10±0,215 <sup>abc</sup>
0,01 $\mu$ M KAR1	2,05±0,234 <sup>c</sup>
0,1 $\mu$ M KAR1	2,08±0,291 <sup>bc</sup>
1 $\mu$ M KAR1	2,26±0,288 <sup>ab</sup>
<b><math>P&lt;0,009</math></b>	

#### 4.4.6. Yaprak Sayısı ile İlgili Bulgular

Deney gruplarının yaprak sayısı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). DS grubunda 14,05 adet ile 1:100 konsantrasyon, KAR1 grubunda ise 14,10 adet ile 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyon en iyi sonucu vermiştir (Tablo 15). Yaprak sayısı verileri istatistiksel olarak birbirine çok yakın çıkmıştır. Kontrol ile 1:100 DS ve 1  $\mu\text{M}$  KAR1, 1:1000 DS ile 0,01  $\mu\text{M}$  KAR1 aynı istatistik grupta yer almaktadırlar. İstatistiksel olarak en az yaprak sayısı 1:500 DS grubunda olduğu gözlenmiştir.

Tablo 15

DS ve KAR1'in yaprak sayısı üzerine etkisi

Deney Grupları	Yaprak Sayısı (adet)
Kontrol	14,00 $\pm$ 2,080 <sup>a</sup>
1:100 DS	14,05 $\pm$ 1,564 <sup>a</sup>
1:500 DS	11,35 $\pm$ 1,797 <sup>c</sup>
1:1000 DS	12,85 $\pm$ 2,197 <sup>ab</sup>
0,01 $\mu\text{M}$ KAR1	13,35 $\pm$ 1,590 <sup>ab</sup>
0,1 $\mu\text{M}$ KAR1	12,35 $\pm$ 1,424 <sup>bc</sup>
1 $\mu\text{M}$ KAR1	14,10 $\pm$ 1,670 <sup>a</sup>

**$P<0,0001$**

#### 4.4.7. Yaprak Alanı ile İlgili Bulgular

Deney gruplarının yaprak alanı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). DS grubunda 4,09  $\text{cm}^2$  ile 1:100 konsantrasyon, KAR1 grubunda ise 3,97  $\text{cm}^2$  ile 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyon en iyi sonucu vermiştir (Tablo 16). Yaprak alanı bakımından verilere bakıldığında kontrol ile aynı ve benzer istatistik grup içerisinde yer aldıkları gözlenmiştir. Veriler birbirine çok yakın çıkmıştır. DS grubunda konsantrasyon azaldıkça yaprak alanında azalma, KAR1 grubunda ise konsantrasyon arttıkça yaprak alanında artma meydana gelmiştir. 0,01  $\mu\text{M}$  KAR1 grubunda kontrole kıyasla yaprak alanında ciddi bir azalma meydana gelmiştir.

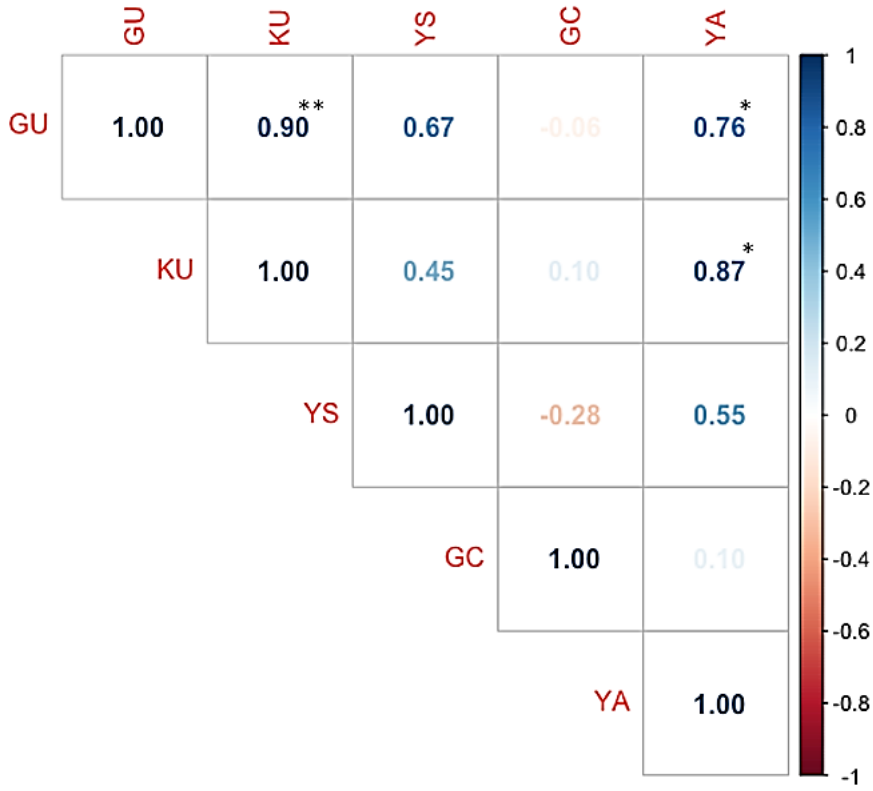
Tablo 16

DS ve KAR1'in yaprak alanı üzerine etkisi

<b>Deney Grupları</b>	<b>Yaprak Alanı (cm<sup>2</sup>)</b>
Kontrol	3,96±0,627 <sup>ab</sup>
1:100 DS	4,09±1,257 <sup>a</sup>
1:500 DS	3,09±0,924 <sup>bc</sup>
1:1000 DS	3,37±0,834 <sup>abc</sup>
0,01 µM KAR1	2,57±1,143 <sup>c</sup>
0,1 µM KAR1	3,54±1,015 <sup>ab</sup>
1 µM KAR1	3,97±0,981 <sup>ab</sup>
<b>P&lt;0,005</b>	

Deney grupları (DS ve KAR1) ve konsantrasyonların etkileşiminde bakılan korelasyon matrisinde gövde çapı ve yaprak sayısı dışındaki bütün parametreler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 21). Grafikteki verilere göre gövde uzunluğu ve kök uzunluğu arasında ( $r^2=0,90$ ), gövde uzunluğu ve yaprak alanı ( $r^2=0,76$ ) arasında pozitif korelasyon vardır. Ayrıca kök uzunluğu ve yaprak alanı ( $r^2=0,87$ ) arasında da pozitif korelasyon olduğunu korelasyon matrisi göstermektedir. DS ve KAR1 gövde ve kök uzunluğuna ve ayrıca yaprak alanına daha etkili olmuştur. Gövde uzunluğu ve gövde çapı arasında ( $r^2=-0,06$ ), yaprak sayısı ve gövde çapı ( $r^2=-0,28$ ) arasında negatif korelasyon mevcuttur. DS ve KAR1 gövde çapı ve yaprak sayısına etkinliği olmadığı gözlenmiştir.





Şekil 21. Morfolojik veriler arasındaki korelasyon matrisi. GU: Gövde uzunluğu, KU: Kök uzunluğu, YS: Yaprak sayısı, GC: Gövde çapı, YA: Yaprak alanı. \* Korelasyon  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlıdır, \*\* Korelasyon  $P < 0,01$  düzeyinde anlamlıdır.

#### 4.5. Toprak Analizi ile İlgili Bulgular

Kayısı 1500-3000  $\mu\text{S cm}^{-1}$  arası EC değerine sahip topraklarda tuzluluğa karşı hassas bitkiler grubuna girmektedir. Iğdır Ovası'nda yer alan TUAM'daki kayısı bahçesinden alınan toprağın EC değeri ( $1966 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) kayısı ağacı için tuzlu toprak kategorisine girmektedir (Tablo 17).

Tablo 17

Toprak örneklerinin alındığı bölgelerdeki EC ve pH değeri

	EC ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	pH
<b>Örnek 1</b>	2000	7,86
<b>Örnek 2</b>	1900	7,90
<b>Örnek 3</b>	2000	7,93
<b>Ortalama</b>	<b>1966</b>	<b>7,90</b>

Toprak analizi sonuçlarına göre laboratuvarında viyollerdeki steril torf-perlit içeren topraklara 50 mM ve 100 mM tuz uygulanmış ve EC değerlerine bakılmıştır. 50 mM 1600  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , 100 mM ise 2200  $\mu\text{S cm}^{-1}$  EC değerine denk gelmiştir. Kayısı ağacı için 2200  $\mu\text{S cm}^{-1}$  EC değeri stres aralığında olduğu için tuzluluk stresi çalışması için 100 mM konsantrasyonun kullanılmasına karar verilmiştir.

#### 4.6. Gen Anlatımı Uygulamaları ile İlgili Bulgular

##### 4.6.1. Total RNA İzolasyonu ile İlgili Bulgular

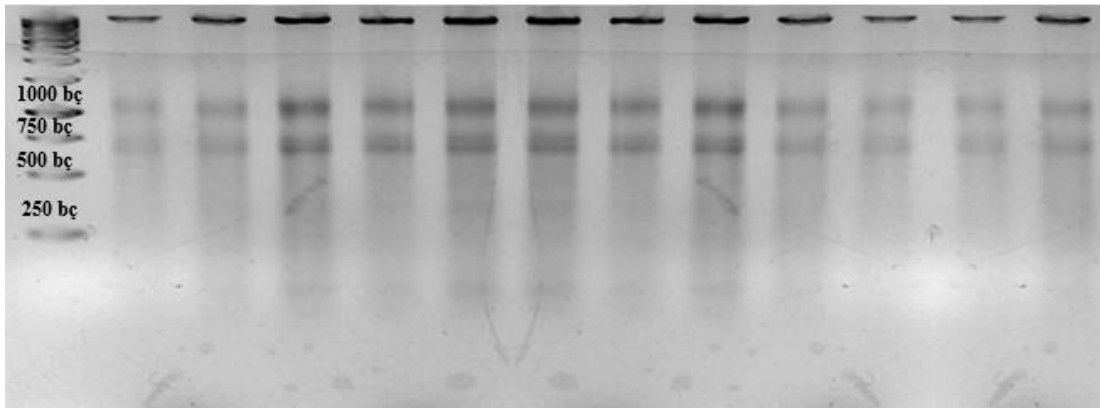
Kayısı ağacı *in vivo* olarak çimlendirildikten sonra bahçe ortamına dikilmektedir. Tuzluluk gibi abiyotik stres faktörüne de fide halindeyken maruz kalmaktadır. Bu yüzden çimlenme bakımından 1:1000 DS daha etkili olmasına rağmen, morfolojik gelişim bakımından 1:100 DS daha etkili olduğu için gen anlatımı çalışmasına 1:100 DS grubu ile devam edilmesine karar verilmiştir. KAR1 grubunda ise hem çimlenme hem de morfolojik gelişim bakımından 1  $\mu\text{M}$  KAR1 daha etkili olduğu için onunla devam edilecektir. Trizol kimyasalı ile gerçekleştirilen RNA ekstraksiyonu ile total RNA elde edilmiştir. Qubit cihazı ile ölçülen RNA konsantrasyonu cDNA sentezi için uygun bulunmuştur (Tablo 18).

Tablo 18

RNA ekstraksiyonu sonucunda qubit cihazı ile ölçülen RNA konsantrasyon verileri

Deney Grupları	Saat	Konsantrasyon (ng/ $\mu$ L)
Kontrol	0	1550,18
100 mM NaCl	3	880,16
100 mM NaCl	6	1218,10
100 mM NaCl	9	1255,08
1:100 DS	0	980,64
1:100 DS	3	863,12
1:100 DS	6	1002,20
1:100 DS	9	1588,88
1 $\mu$ M KAR1	0	655,56
1 $\mu$ M KAR1	3	550,58
1 $\mu$ M KAR1	6	1454,20
1 $\mu$ M KAR1	9	348,18

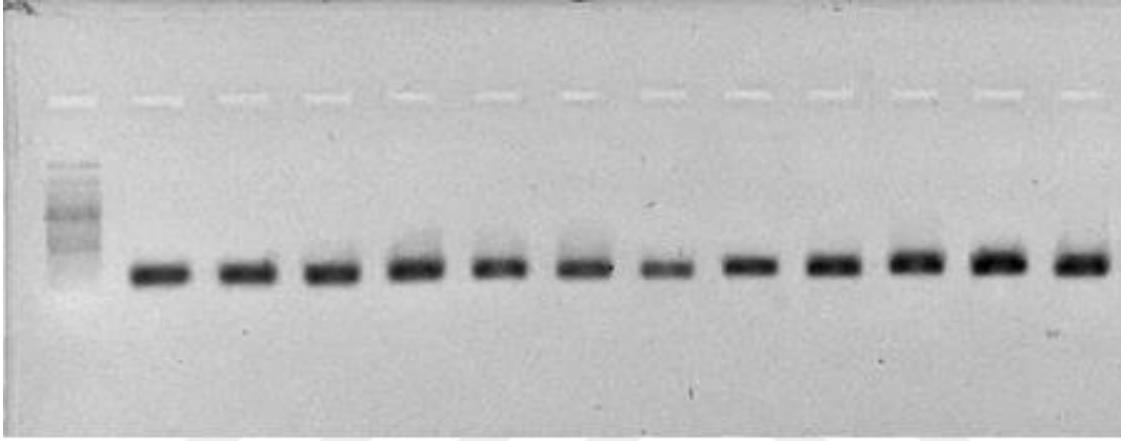
RNA izolasyonu sonrasında yapraktan elde edilen total RNA miktarlarının sırasıyla en düşük ve en yüksek 348,18 ve 1588,88 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> arasında değerlere sahip olduğu bulunmuştur. Yapılan %2'lik agaroz jel elektroforezinde elde edilen RNA'ların bütünlüğünün korunduğu ve sağlam olduğu rRNA bantlarının varlığından anlaşılmıştır (Şekil 22).



Şekil 22. cDNA için kullanılan total yaprak RNA'ları. Kuyucuklarda sırası ile kontrol, 100 mM NaCl 3. sa, 100 mM NaCl 6. sa, 100 mM NaCl 9. sa, 1:100 DS 0. sa, 1:100 DS 3. sa, 1:100 DS 6. sa, 1:100 DS 9. sa, 1  $\mu$ M KAR1 0. sa, 1  $\mu$ M KAR1 3. sa, 1  $\mu$ M KAR1 6. sa, 1  $\mu$ M KAR1 9. sa örnekler vardır.

#### 4.6.2. cDNA Sentezi ile İlgili Bulgular

cDNA sentezinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin teyidi için primerlerini kayısı bitkisi için tasarladığımız Actin (ACT) geni geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmış ve agaroz jel elektroforezi ile bölgenin çoğaldığı teyit edilmiştir (Şekil 23). Jel elektroforez görüntülerinden de anlaşılacağı gibi cDNA sentezi başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir.

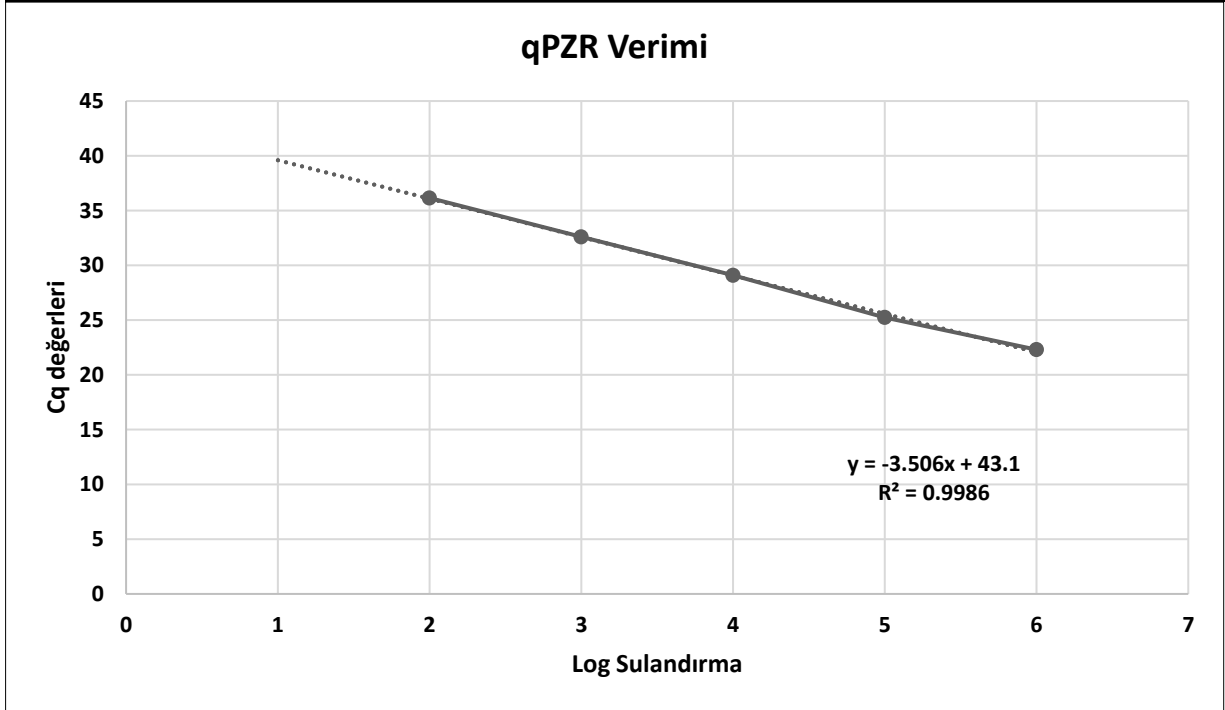


Şekil 23. cDNA sentezi sonrasında sentezin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği, ACT referans genine ait primerler kullanılarak PCR ile teyit edilmiştir. Kuyucuklarda sırası ile kontrol, 100 mM NaCl 3. sa, 100 mM NaCl 6. sa, 100 mM NaCl 9. sa, 1:100 DS 0. sa, 1:100 DS 3. sa, 1:100 DS 6. sa, 1:100 DS 9. sa, 1 μM KAR1 0. sa, 1 μM KAR1 3. sa, 1 μM KAR1 6. sa, 1 μM KAR1 9. sa örnekler vardır.

#### 4.6.3. Primer Verimliliği ile İlgili Bulgular

qPZR her gene özgü primer çiftleri ile 6 kez seri sulandırılmış cDNA kalıpları kullanılarak yapılmıştır ve elde edilen C<sub>q</sub> değerleri ve temsili kopya sayılarının logaritmik değerleri ile Excel yazılımında standart eğriler çizilerek verimlilik hesabı yapılmıştır. ACT geninin primer çiftine ait standart eğride R<sup>2</sup> değeri 0,9986 olarak hesaplanmıştır ve çizilen standart eğri doğrusaldır. Elde edilen eğrinin eğimi -3,506'dır ve bu eğim değeri kullanılarak verimlilik hesabı yapıldığında, bu primere ait qPZR çalışmalarının %92,9 verimlilikle çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 24). Sonuç olarak, bu primer çiftini ACT gen anlatımı çalışmalarında kullanmak güvenilirdir.

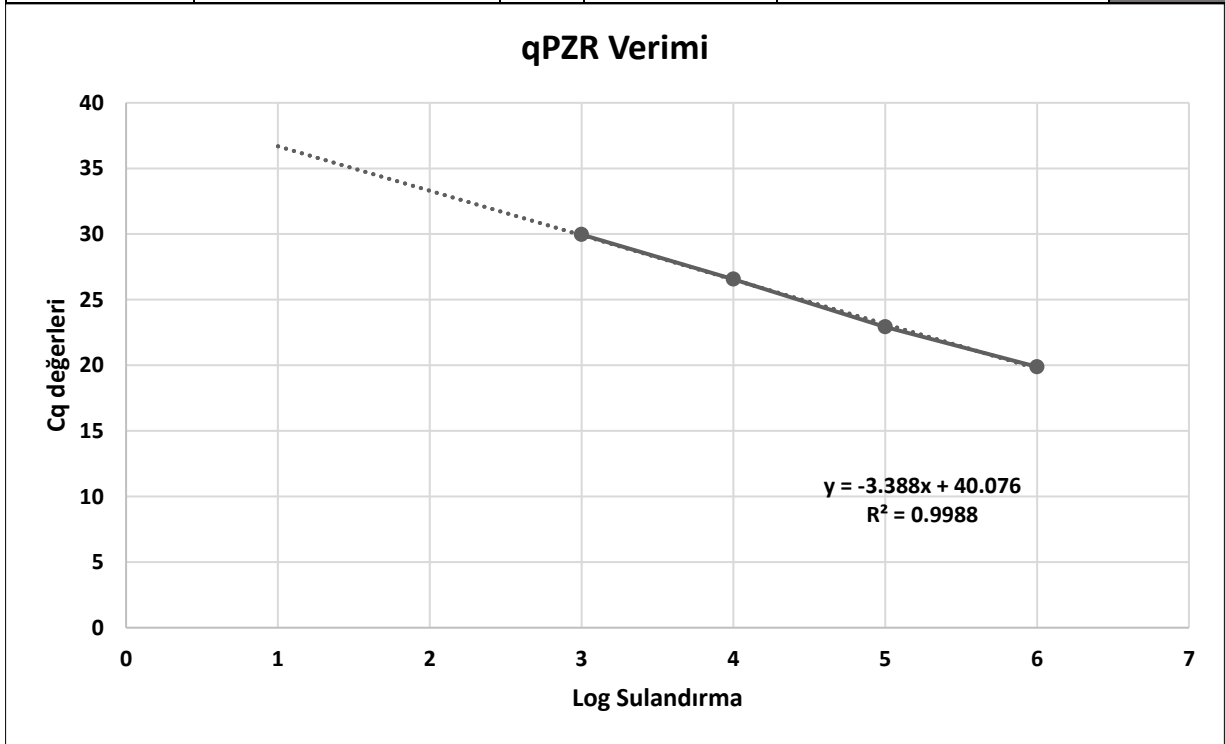
Sulandırma	Temsili Kopya Sayısı	Log	Cq Değerleri	Sulandırma Katsayısı =	10
1.	1000000	6	22,30	Sulandırma Sayısı =	6
2.	100000	5	25,24		
3.	10000	4	29,09	Hedef =	ACT
4.	1000	3	32,60	Sample =	cDNA
5.	100	2	36,15	Eğim =	-3,506
6.	10	1		Verimlilik (%) =	92,9



Şekil 24. ACT genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi.

CAT geninin primer çiftine ait standart eğride  $R^2$  değeri 0,9988 olarak hesaplanmıştır ve çizilen standart eğri doğrusaldır. Elde edilen eğrinin eğimi -3,388'dir ve bu eğim değeri kullanılarak verimlilik hesabı yapıldığında, bu primere ait qPZR çalışmalarının %97,3 verimlilikle çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 25). Sonuç olarak, bu primer çiftini CAT gen anlatımı çalışmalarında kullanmak güvenilirdir.

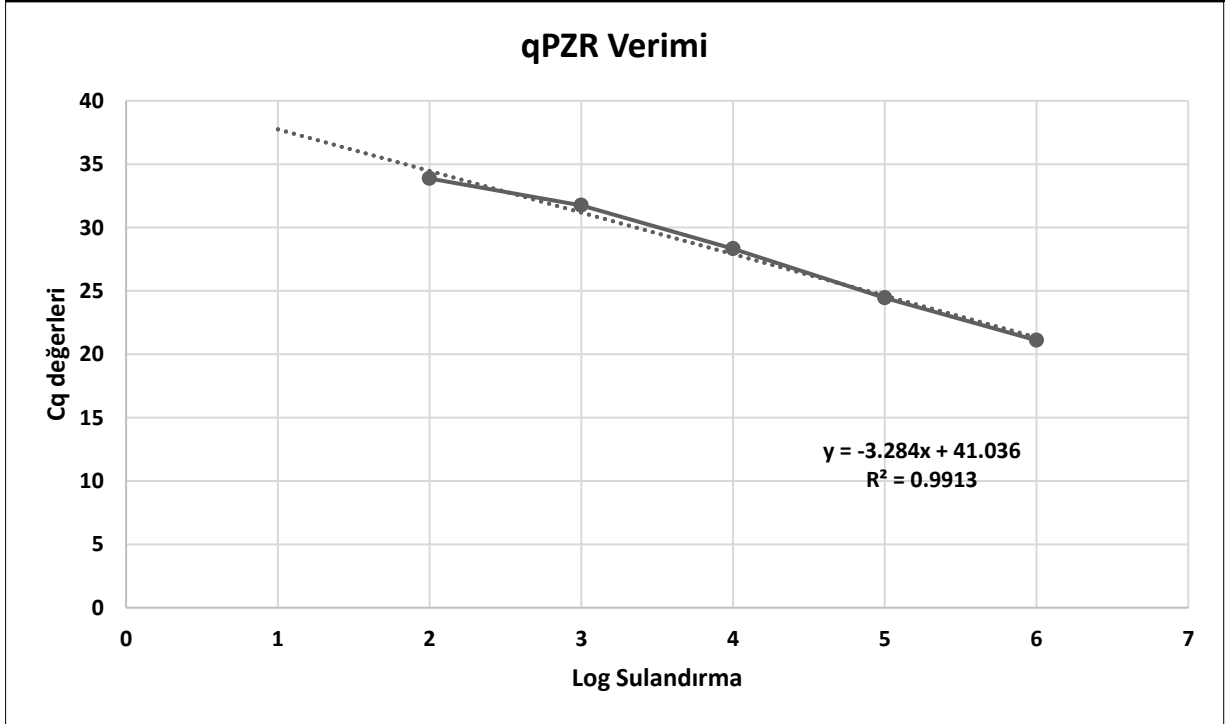
Dilüsyonlar	Temsili Kopya Sayısı	Log	C <sub>q</sub> Değerleri	Sulandırma Katsayısı =	10
1.	1000000	6	19.88	Sulandırma Sayısı =	6
2.	100000	5	22.92		
3.	10000	4	26.56	Hedef =	CAT
4.	1000	3	29.96	Sample =	cDNA
5.	100	2		Eğim =	-3.388
6.	10	1		Verimlilik (%) =	97.3



Şekil 25. CAT genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi.

SOD geninin primer çiftine ait standart eğride R<sup>2</sup> değeri 0,9913 olarak hesaplanmıştır ve çizilen standart eğri doğrusaldır. Elde edilen eğrinin eğimi -3,284'dür ve bu eğim değeri kullanılarak verimlilik hesabı yapıldığında, bu primere ait qPZR çalışmalarının %101,6 verimlilikle çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 26). Sonuç olarak, bu primer çiftini SOD gen anlatımı çalışmalarında kullanmak güvenilirdir.

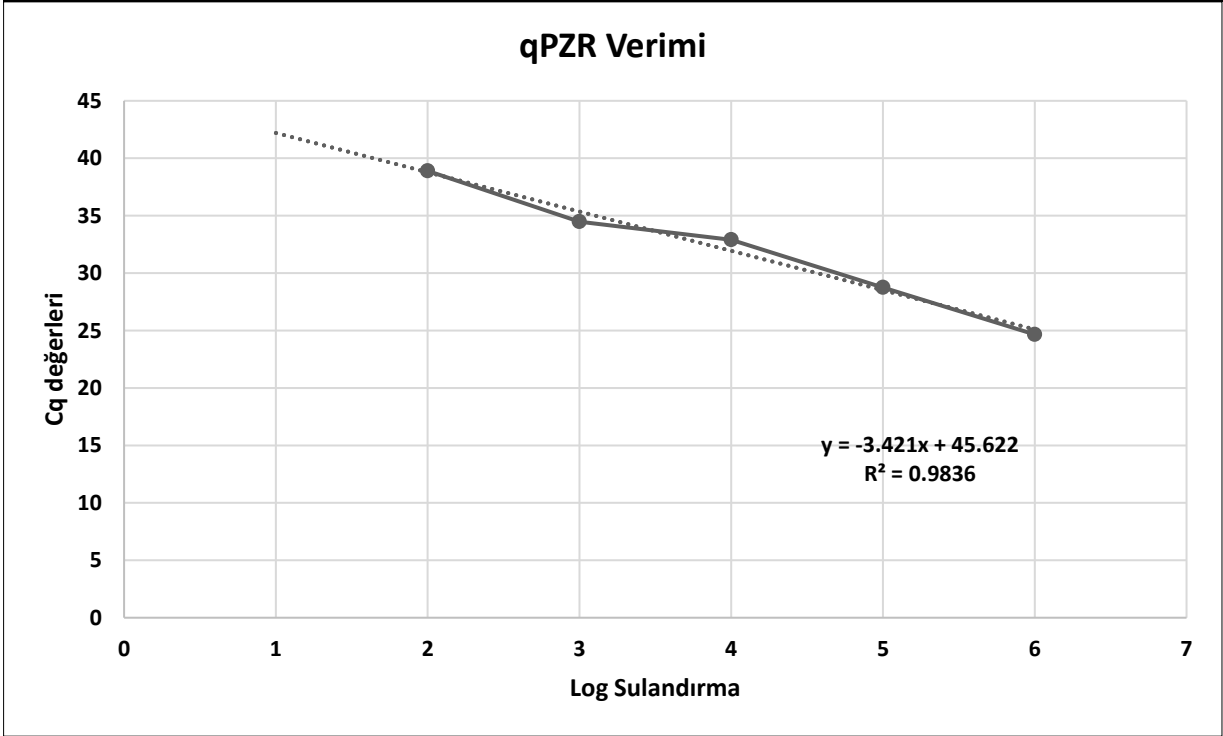
Dilüsyonlar	Temsili Kopya Sayısı	Log	C <sub>q</sub> Değerleri	Sulandırma Katsayısı =	10
1.	1000000	6	21.1	Sulandırma Sayısı =	6
2.	100000	5	24.45		
3.	10000	4	28.33	Hedef =	SOD
4.	1000	3	31.75	Sample =	cDNA
5.	100	2	33.87	Eğim =	-3.284
6.	10	1		Verimlilik (%) =	101.6



Şekil 26. SOD genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi.

GPX geninin primer çiftine ait standart eğride  $R^2$  değeri 0,9836 olarak hesaplanmıştır ve çizilen standart eğri doğrusaldır. Elde edilen eğrinin eğimi -3,421'dir ve bu eğim değeri kullanılarak verimlilik hesabı yapıldığında, bu primere ait qPZR çalışmalarının %96,0 verimlilikle çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 27). Sonuç olarak, bu primer çiftini GPX gen anlatımı çalışmalarında kullanmak güvenilirdir.

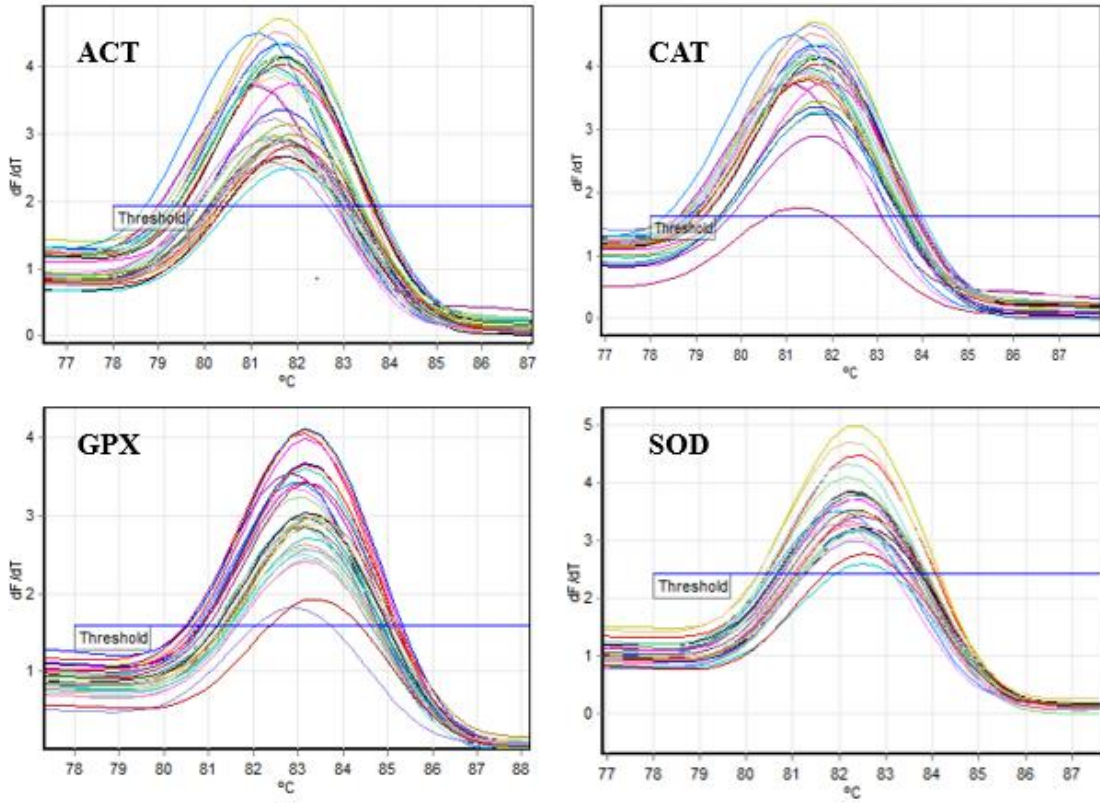
Dilüsyonlar	Temsili Kopya Sayısı	Log	C <sub>q</sub> Değerleri	Sulandırma Katsayısı =	10
1.	1000000	6	24.66	Sulandırma Sayısı =	6
2.	100000	5	28.75		
3.	10000	4	32.90	Hedef =	GPX
4.	1000	3	34.48	Sample =	cDNA
5.	100	2	38.90	Eğim =	-3.421
6.	10	1		Verimlilik (%) =	96.0



Şekil 27. GPX genine ait qPZR primer çiftinin standart eğrisi.

Primer verimlilikleri belirlendikten sonra tüm primerlere ait erime eğrisi analizleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlara göre bu primerler ile tek bir ürün çoğaldığı tespit edilmiştir (Şekil 28). Primer verimlilikleri ve erime eğrisi analizlerinin sonuçlarına göre gen anlatımı çalışması için seçilen tüm primerlerin qPZR çalışmaları için kullanılabilirliği belirlenmiştir.



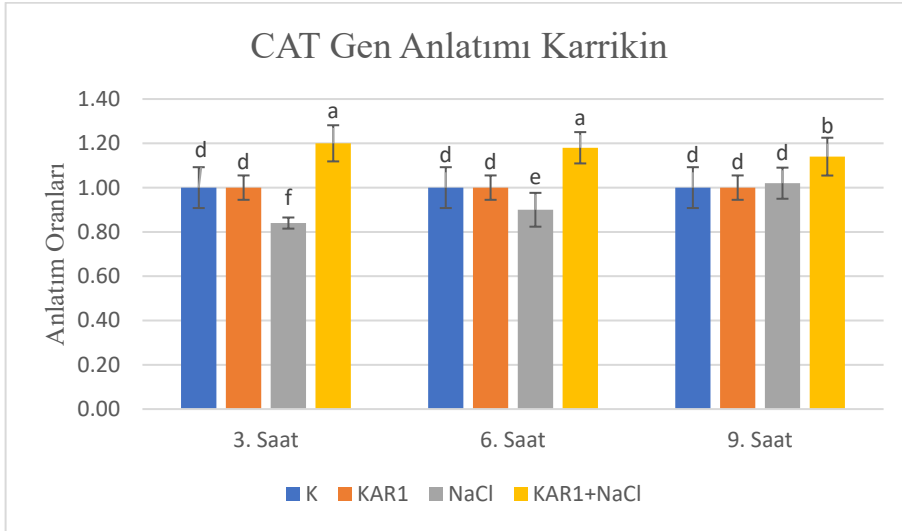
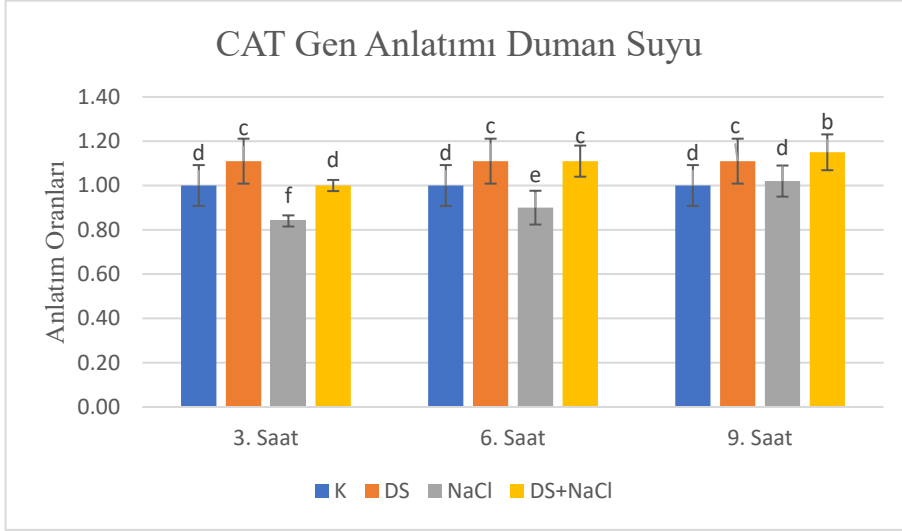


Şekil 28. Primerlerin erime eğrisi analizleri.

#### 4.6.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPZR) ile İlgili Bulgular

##### CAT Gen Anlatımı ile İlgili Bulgular

Deney gruplarının CAT gen anlatımı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). CAT gen anlatımı ile ilgili sonuçlar kontrole kıyasla, DS uygulamasının gen anlatımını %11 arttırdığını göstermektedir (Şekil 29).



Şekil 29. CAT qPZR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat).

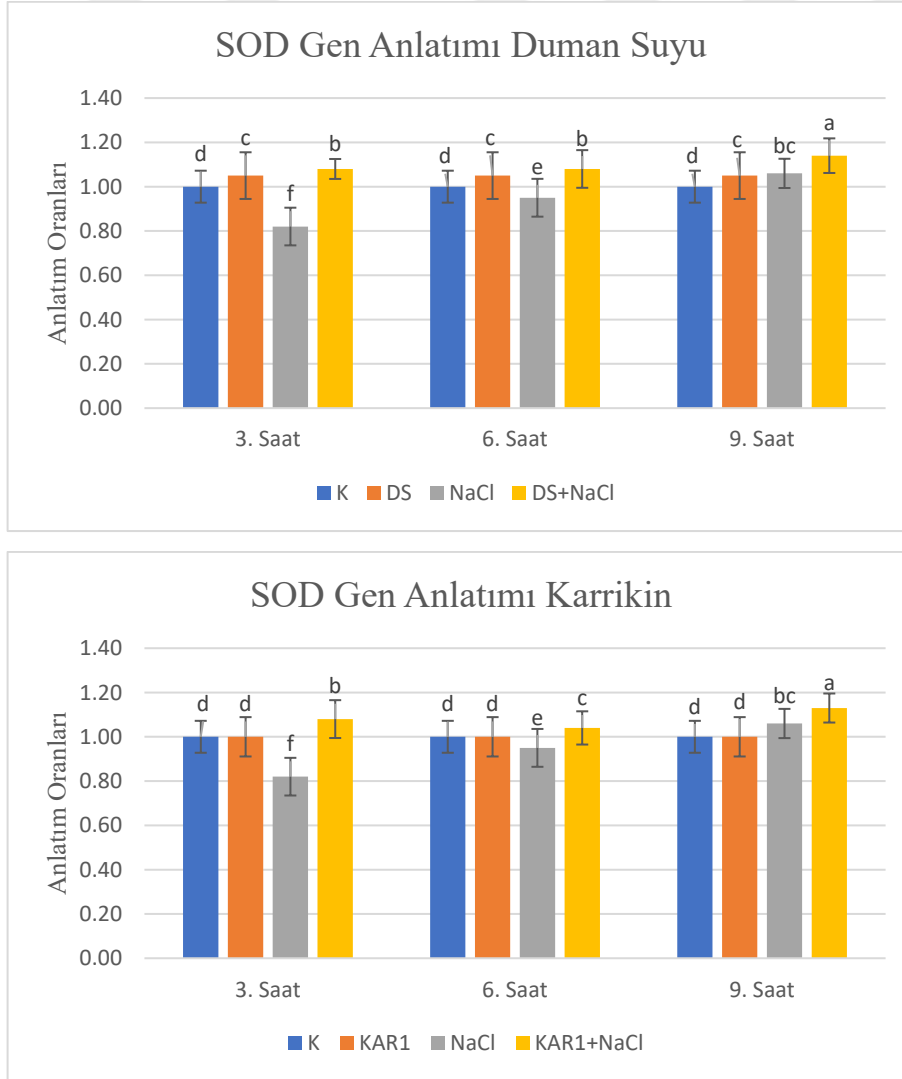
Tuz uygulamasının 3. ve 6. saatlerinde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %16 ve %10 azalma olduğu, 9. saatinde ise %2 artma olduğu belirlenmiştir. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında gen anlatımında artış olduğu saptanmıştır. DS grubunda 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %11 ve %15 artış olduğu belirlenmiştir. KAR1 grubunda ise 3., 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %20, %18 ve %14 artış olduğu belirlenmiştir.

Grafiklerden de anlaşılacağı gibi tek başına DS uygulaması KAR1 göre gen anlatımının artışında daha fazla etkili olmuştur. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında, KAR1 grubunun DS grubuna göre gen anlatımında daha etkili olduğu anlaşılmaktadır. DS

grubu 9. saatte daha fazla etki gösterirken KAR1 grubu ise stresin ilk basamağı olan 3. saatten itibaren etkisini göstermeye başladığı görülmektedir. Sonuç olarak CAT gen anlatımında DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında, KAR1 uygulamasının DS uygulamasına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

### SOD Gen Anlatımı ile İlgili Sonuçlar

Deney gruplarının SOD gen anlatımı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). SOD gen anlatımı ile ilgili sonuçlar kontrole kıyasla, DS uygulamasının gen anlatımını %5 arttırdığını göstermektedir (Şekil 30).



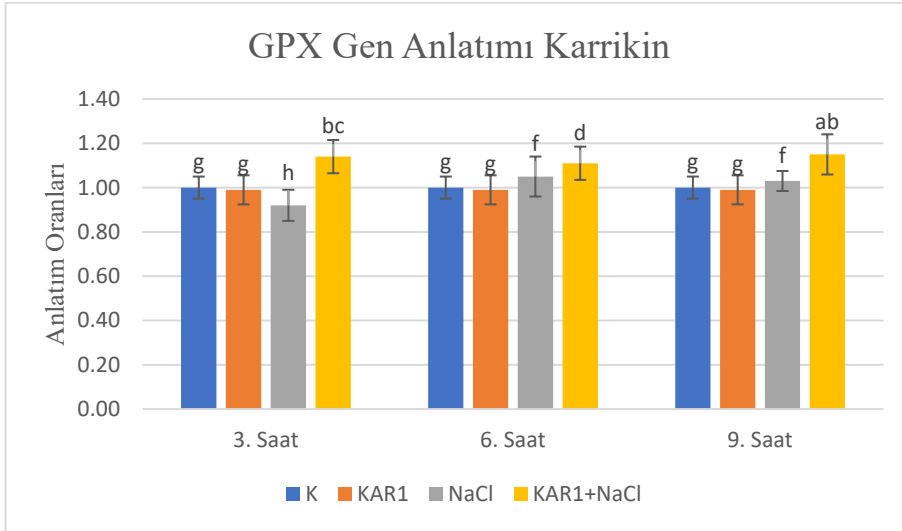
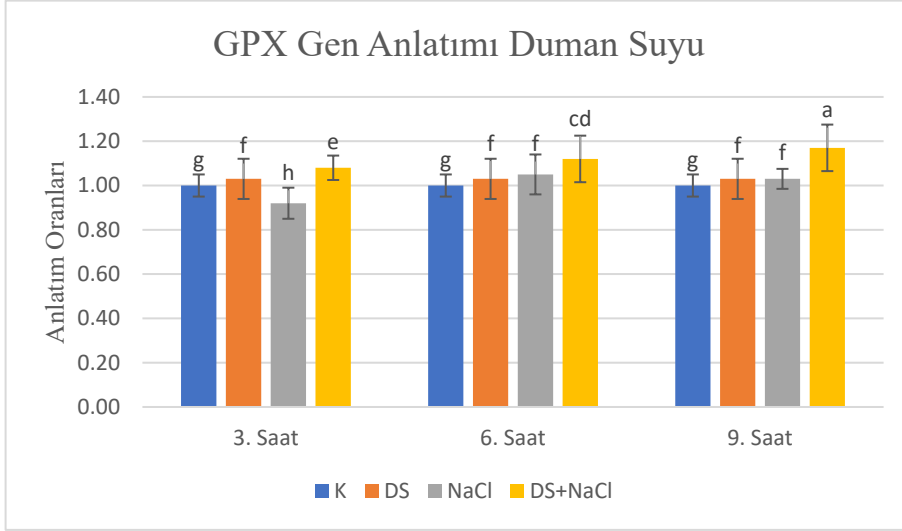
Şekil 30. SOD qPCR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat).

Tuz uygulamasının 3. ve 6. saatlerinde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %18 ve %5 azalma olduğu, 9. saatinde ise %6 artma olduğu belirlenmiştir. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında gen anlatımında artış olduğu saptanmıştır. DS grubunda 3. 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %8, %8 ve %14 artış olduğu belirlenmiştir. KAR1 grubunda ise 3., 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %8, %4 ve %13 artış olduğu belirlenmiştir.

Grafiklere bakıldığında tek başına DS ve KAR1 uygulamaları gen anlatımında çok fazla etkili olmadığı görülmektedir. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında her ikisi de benzer sonuçlar göstererek uygulamanın 9. saatinde daha etkili olduğu görülmektedir. Sonuç olarak SOD gen anlatımı için DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında eşit etki gösterdiği belirlenmiştir.

### **GPX Gen Anlatımı ile İlgili Sonuçlar**

Deney gruplarının GPX gen anlatımı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). GPX gen anlatımı ile ilgili sonuçlar kontrole kıyasla, DS uygulamasında gen anlatımını %3 arttırdığını göstermektedir (Şekil 31).



Şekil 31. GPX qPZR anlatım sonucu. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat).

Tuz uygulamasının 3. saatinde kontrole kıyasla %8 azalma, 6. ve 9. saatlerinde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %5 ve %3 artış olduğu belirlenmiştir. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında gen anlatımında artış olduğu saptanmıştır. DS grubunda 3. 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %8, %12 ve %17 artış olduğu belirlenmiştir. KAR1 grubunda ise 3., 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla gen anlatımında sırasıyla %14, %11 ve %15 artış olduğu belirlenmiştir.

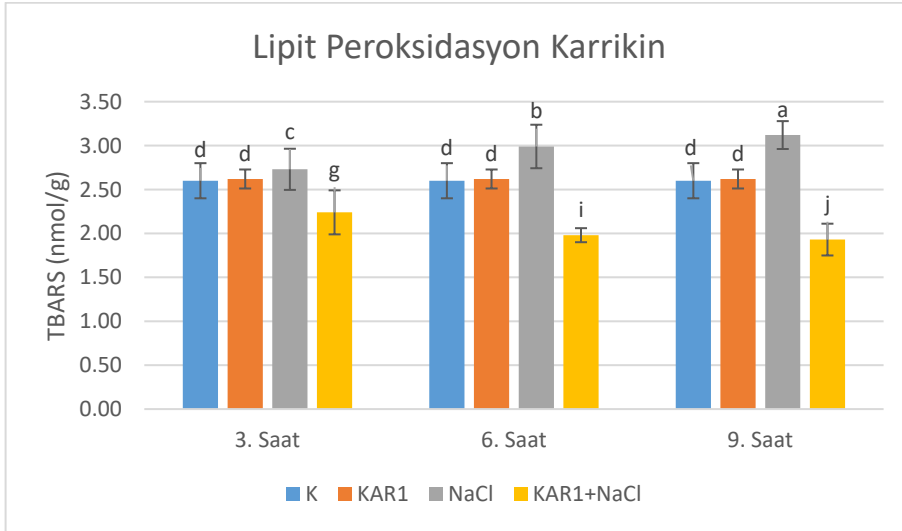
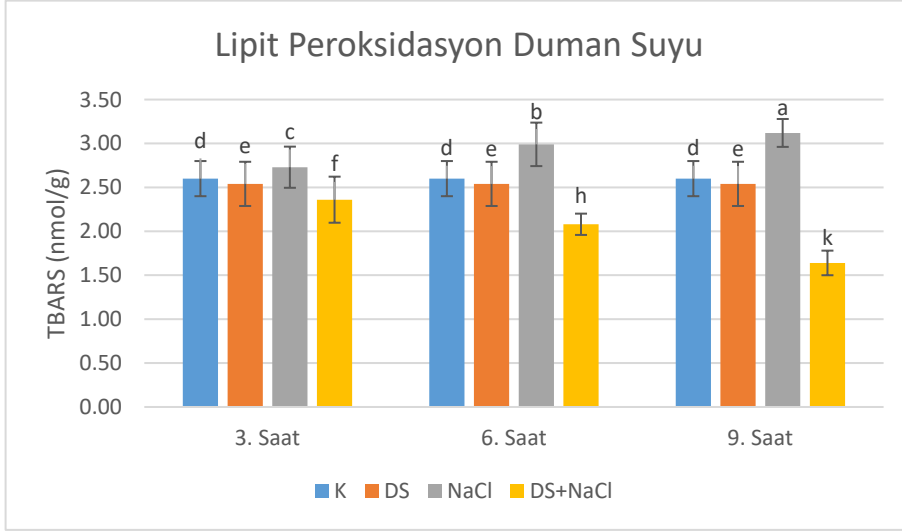
Grafiklere bakıldığında tek başına DS uygulaması KAR1 göre gen anlatımının artışında daha fazla etkili olmuştur. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında her ikisinin

de 9. saatte daha etkili olduğu görülmektedir. Sonuç olarak GPX gen anlatımında DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında benzer sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir.

#### **4.7. Biyokimyasal Analiz ile İlgili Bulgular**

##### **4.7.1. Lipit Peroksidasyon Miktarı**

Deney gruplarının lipit peroksidasyon miktarı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS), lipit peroksidasyonunun bir yan ürünüdür ve lipit peroksidasyon ürünlerinin parçalanması sonucu oluşan son ürün olan malondialdehiti (MDA) ler. TBARS seviyesinde kontrole kıyasla DS uygulamasında %6 azalma, KAR1 uygulamasında ise %2 artma meydana gelmiştir (şekil 32).



Şekil 32. Duman suyu ve karrikin lipit peroksidasyonu üzerine etkileri. K: Kontrol (0. saat), DS: Duman suyu (0. saat), KAR1: Karrikin (0. saat).

Tuz uygulamasının 3. 6. ve 9. saatlerinde sırası ile kontrole kıyasla hücrelerde %13, %39 ve %52 TBARS seviyesinin arttığı görülmektedir, bu da hücrel membran hasarının tuz stresinin bir sonucu olduğunu göstermektedir. DS ve KAR1 gruplarına tuz uygulandığında TBARS seviyesinde azalma olduğu saptanmıştır. DS grubunda 3. 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla TBARS seviyesinde sırasıyla %24, %52 ve %96 azalma olduğu belirlenmiştir. KAR1 grubunda ise 3., 6. ve 9. saatlerde kontrole kıyasla TBARS seviyesinde sırasıyla %36, %62 ve %67 azalma olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar DS'nin ve KAR1'in tuz stresinin neden olduğu hücrel membran hasarını iyileştirme kabiliyetine sahip olduğunu göstermektedir. Fakat DS'nin KAR1'e göre daha etkili bir iyileştirme gösterdiği sonuçlardan anlaşılmaktadır.

Grafiklere bakıldığında tuzluluğa maruz kalma süresi arttıkça bitkinin tuzluluk stresinden etkilendiği ve TBARS seviyesinde artış olduğu saptanmıştır. Tuzluluk stresi altındaki bitkiye DS ve KAR1 uygulaması ile TBARS seviyesinde azalma olduğu gözlenmiştir. TBARS seviyesindeki bu azalma ile DS ve KAR1 uygulamalarının oksidatif hasarı etkili bir şekilde iyileştirdiğine işaret etmektedir.

#### 4.8. Tartışma

Avustralya, Güney Afrika ve Kuzey Amerika'da her yıl geniş orman yangınları çıkmaktadır ve bu yangınların ardından bazı bitki türleri hızla çimlenir, büyür, çiçek açar ve yeni bitkiler üretirler. Bu, bazı bitki türleri için hayatta kalma stratejilerinden bir tanesidir (Flematti vd., 2015). 1990'da yayınlanan bir çalışma, yanan bitkilerden elde edilen dumanın, tohumların çimlenmesini teşvik edebileceğini göstermiştir (De Lange ve Boucher, 1990). O zamandan beri, yanmış kağıttan çıkan dumanın ve hatta ısıtılmış agar veya selülozdan hazırlanan ekstraktların bile çimlenmeyi uyarabildiği gösterilmiştir (Jäger vd., 1996). Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda çimlenmeyi uyaran bu maddenin dumanın içeriğindeki KAR1 olduğu tespit edilmiştir (Flematti vd., 2004). DS'nin içeriğindeki KAR1 miktarının yakılan materyale, yakma sıcaklığına, yakma süresine ve yakılan materyalin miktarına bağlı olarak değişebileceğini düşünmekteyiz. Yapılan çalışmaların çoğunda yakılan materyal olarak *T. triandra* Forssk, *Heteropogon contortus* Beauv. ex Roemer ve J. A. Schultes, *Tristachya leucothrix* Trin. ex Nees, *Hyparrhenia hirta* (L.) Staph, *Aristida junciformis* Trin. ve Rupr, *Cymbopogon validus* Stapf ex Burt Davy, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. gibi orman zemini vejetasyonu, *Eucalyptus lanceolatus* Labill., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Saraca asoca* (Roxb.) Willd., *Morus alba* L., *Ficus religiosa* (L.) Forssk, *Passerina vulgaris* Meisn. gibi çalı ve ağaç formundaki bitkilerin yaprak ve odun kısımları, saman, kentsel atık bitki materyalleri, kağıt, şeker kamışı, selüloz, glukoz, ksiloz ve glisin gibi sentetik ürünler kullanılmıştır (Flematti vd., 2009, 2011; Gupta vd., 2019; Hrdlička vd., 2019; Kochanek vd., 2016; Shabir vd., 2021). Araştırmada yakılan materyal olarak yonca samanı kullanılmıştır. Samanın içeriğinde %30-40 arası selüloz, %20-30 arası ise ksiloz bulunmaktadır (Artık vd., 1993; Yüksel, 2017). Yapılan bir çalışmaya göre sentetik selüloz, glukoz, ksiloz ve glisin yakılmış ve içeriğindeki KAR miktarına bakılmıştır. Sonuç olarak sırası ile en fazla ksiloz>glisin>ksiloz>selüloz>glukoz içerisinde KAR bulunmuştur (Flematti vd., 2011). Literatüre göre, bitkisel materyalin 180-200 °C sıcaklıkta 30 dk. yakılması durumunda



çimlenmeyi teşvik edecek olan maddelerin açığa çıkması için yeterli olacağı düşünülmektedir (Flematti vd., 2015). Yapılan çalışmalara göre genel olarak yakma sıcaklığı ve süresi 180-200 °C 10-30 dk. arası kullanılırken (Brown ve Van Staden, 1997; Çatav vd., 2018a; Çatav vd., 2018b; Downes vd., 2013; Shabir vd., 2021; Van Staden vd., 2004), başka bir çalışmada ise 450-730 °C 2-40 dk. (Kochanek vd., 2016) gibi çok yüksek sıcaklık kullanılmıştır. Araştırmada ise 275 °C 60 dk. boyunca bitkisel materyal yakılmıştır. HPLC çalışması literatür ile karşılaştırıldığında, elde etmiş olduğumuz DS'de daha fazla KAR1 maddesi olduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 19). Bununda yakmış olduğumuz materyalden (yonca samanı), yakma sıcaklığından, yakma süresinden ve yakılan materyalin miktarından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca dumanın çözüldüğü nuçe erleninin altına buz aküsü koyarak, gazların suda daha hızlı ve etkili çözünmesinin sağlanması da DS'de daha fazla KAR1 maddesinin tutunduğunu göstermektedir.

Literatür verilerine bakıldığında bu araştırmadaki gibi 1:1 oranında maddenin yakıldığı çalışmada (Gupta vd., 2019) elde edilen KAR1 miktarı bu araştırmaya en yakın sonuç olduğu görülmektedir. Diğer çalışmalarda oransal olarak daha fazla madde yakılsa bile elde edilen KAR1 miktarı çok düşük olmuştur. Kochanek vd., 2016'nın yapmış olduğu çalışmaya göre, KAR1 maddesinin yoğun olması için, yavaş, düşük sıcaklık altında ve büyük hammadde miktarlarıyla olabileceği düşünülmektedir. Bunun aksine hızlı, daha yüksek sıcaklık altında veya küçük hammadde miktarında KAR1 maddesinin daha çabuk tüketildiği ve bozulduğu, etkili bir şekilde oluşmadığı ve dolayısıyla bu koşullar altında üretilen DS karışımlarında yalnızca düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğu tahmin edilmektedir.

Tablo 19

Literatür ve bu çalışmada elde edilen verilerin karşılaştırılması

	DS'deki KARI miktarı	<sup>1</sup> Bu çalışma:Literatür oranı	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	Yakılan materyal	Yakılan madde miktarı	
<b>Bu çalışmanın verileri</b>	<b>8,70398 ng <math>\mu\text{L}^{-1}</math></b>		<b>275</b>	<b>60</b>	<b><i>Medicago sativa</i></b>	<b>1 kg/1 L</b>	
Referanslar	Gupta vd., 2019	1,71148 $\pm$ 2300 ng $\mu\text{L}^{-1}$ (2018 yılı verileri)	5:1	Bitki materyali kül olana kadar yakılmıştır.	<i>Themeda triandra</i> , Heteropogon <i>contortus</i> , <i>Tristachya</i> <i>leucothrix</i> , <i>Hyparrhenia hirta</i> , <i>Aristida</i> <i>junciformis</i> , <i>Cymbopogon</i> <i>validus</i>	26 kg/26 L	
		0,00123 $\pm$ 3,2 ng $\mu\text{L}^{-1}$ (1993 yılı verileri)	7076:1		Fynbos (Güney Afrika bitki örtüsü) yaprakları	5 kg/500 mL	
		0,00488 $\pm$ 1,4 ng $\mu\text{L}^{-1}$ (1998 yılı verileri)	1784:1		<i>Passerina vulgaris</i> , <i>Themeda triandra</i>		
	Hrdlička vd., 2019	0,00176 $\pm$ 4,3 ng $\mu\text{L}^{-1}$	4945:1	-	45	Fynbos (Güney Afrika bitki örtüsü) yaprakları	5 kg/500 mL
		0,00488 $\pm$ 1,4 ng $\mu\text{L}^{-1}$	1784:1			<i>Passerina vulgaris</i> , <i>Themeda triandra</i>	
		0,00949 $\pm$ 1,5 ng $\mu\text{L}^{-1}$	917:1			<i>Themeda triandra</i>	
		0,00141 $\pm$ 0,4 ng $\mu\text{L}^{-1}$	6173:1			<i>Themeda triandra</i>	10 kg/500 mL
		0,01117 $\pm$ 3,7 ng $\mu\text{L}^{-1}$	779:1			Fynbos (Güney Afrika bitki örtüsü) yaprakları	5 kg/500 mL
		0,01525 $\pm$ 7,9 ng $\mu\text{L}^{-1}$	571:1			Bitki materyali kül olana kadar yakılmıştır.	Ticari duman suyu marka model belirtilmemiş
	Kochanek vd., 2016	0,069 $\pm$ 8,8 ng $\mu\text{L}^{-1}$	126:1	590	28-29	Pirolitik sıvı (odun sirkesi)	250 kg/20 L

<sup>1</sup>Literatüre göre bu çalışmada elde edilen KARI oranları.

Kayısı bir bahçe bitkisi olduğundan dolayı sürgünleri, nodal tomurcukları, embriyoları ve tohumları gibi eksplant kısımları hem dıştan hem de içten gelen bakteriyel ve fungal birtakım mikroorganizmaların yaşayıp barınabileceği uygun yerlerdir. *In vitro* ya da *in vivo* çalışmalarda kayısı gibi bir meyve ağacı ile çalışılıyorsa, eksplant kaynağı olarak da laboratuvar gibi kontrollü koşullar altında yetiştirilen bir bitkiden değil de bahçeden doğrudan ağaçtan alınmak zorunda ise mutlaka ilk öncelik çalışılacak eksplantın yüzey sterilizasyon optimizasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bu çalışmada  $\leq 5$  NaOCl içeren domestos marka sterilant kullanılmıştır. Bazı araştırmacılar %10 ve %53 (Axion) NaOCl içeren ticari sterilantlar kullanmışlardır. (Mante vd., 1989; Yıldırım, 2006, 2012; Yıldırım vd., 2011a). Yıldırım (2006, 2011a, 2012), kayısı tohumunun %5 NaOCl + 15 dk. uygulamasının daha iyi sonuç verdiğini tespit ederken, Mante vd., (1989), ise %0,5 + 12-15 dk. uygulamasının daha iyi sonuç verdiğini tespit etmiştir. Wang (2011, 2013), kayısı tohumlarının 20 dk. boyunca %1'lik NaOCl ve 20  $\mu$ l Tween-20 uygulamasının sterilizasyon için yeterli olacağını belirtmiştir. Araştırmada %20 NaOCl + 15 dk. bekletme süresinin kayısı tohumlarının sterilizasyonu için yeterli bir uygulama olduğunu düşünmekteyiz. Genel olarak *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların sürdürülebilirliği çalışılacak materyalin yüzey sterilizasyonu optimizasyonuna bağlıdır. Çalışılacak bitki türü, çeşidi ve eksplant tipine bağlı olarak konsantrasyon ve süre farklılık göstereceği için en uygun yüzey sterilizasyon tekniklerinin geliştirilmesi çok önemli bir aşamadır. Örneğin; çeşitli kayısı ve sert çekirdekli meyve türlerinin farklı eksplant (sürgün ucu, meristem, tek boğum tomurcukları, embriyo ve tohum vb.) tiplerinin yüzey sterilizasyon çalışmalarında farklı sterilant, ön sterilizasyon, farklı konsantrasyon ve bekletme süreleri uygulandığı bilinmektedir. Bazı çalışmalarda kullanılan eksplanta fungusit ya da Tween-20 gibi deterjan bazlı materyaller ile ön sterilizasyon işlemi yapılmış daha sonra normal sterilizasyon sürecine devam edildiği bildirilmiştir. Eksplantın alınacağı bitkinin durumu, bitkinin türü ve çeşidi, materyalin alınacağı mevsim ve dönem gibi etkenlerden dolayı sterilizasyon uygulamalarında farklılık olması muhtemeldir.

Kayısı ya da diğer sert çekirdekli meyve türlerinin sürgün, tohum, nodal tomurcuk, embriyo vb. eksplant kısımları birçok araştırmacı tarafından *in vitro* olarak çoğaltılmaya çalışılmıştır (Abdelsattar vd., 2020; Aktürk, 2009; Balla ve Brozik, 1996; Carmona ve Petri, 2020; Ghayyad, 2018; Hokanson ve Pooler, 2000; Mante vd., 1989; Schmidt ve Ketzel, 1996; Schulze vd., 2017; Wang vd., 2013; Yıldırım, 2006; 2011b; 2012). Araştırma için

kayısı tohumundan ilk olarak *in vitro* çalışma denemeleri kurulmuştur. Çalışmada kullanılacak olan besiyeri, bitki büyüme düzenleyicisi, konsantrasyonlar ve ortam şartları literatür verilerine göre seçilmiştir (Mante vd., 1989; Pérez-Tornero vd., 2000; Yıldırım, 2006). Fakat çalışmanın belli bir kısmından sonra ilerleme sağlanamamıştır. Köklerde meydana gelen kararma ve kahverengileşmelerden dolayı çalışma *in vivo* olarak değiştirilmiştir. Kararma ve kahverengileşmenin, köklerde biriken fenolik bileşiklerden, hava akışı olmayan magenta kaplarının kullanılmasından (magenta kaplarının üst kısmında biriken etilenden kaynaklı olarak), aktif karbon kullanılmamasından (Thomas, 2008) ve kullanılan MS ortamının modifiye edilmemesinden (Gentile vd., 2002; Marino vd., 1991; Marino vd., 1993; Yıldırım, 2006) kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Özellikle Rosaceae familyasına ait çoğu meyve ağacının tohumları, dormansinin kırılması için ön işleme tabi tutulmadıkça ya filizlenmemektedir ya da çok düşük çimlenme oranı göstermektedir (Kaşka, 1970). Kayısı çekirdeği, sırasıyla tohumun kendisinin ve endokarpın bileşenlerinin neden olduğu hem endojen hem de eksojen iki farklı dormansiye sahiptir. Ilıman bölge meyvelerinde dormansi istenmeyen bir özelliktir ve tohumlar ön işlem uygulanmadan ekildiğinde düzenli çimlenme göstermemektedirler. Bu nedenle katlama işlemi, bitki büyüme düzenleyicisi kullanımı ve asit ile muamele gibi bir takım ön işlemler dormansinin kırılmasını kolaylaştırmaktadır. Optimum katlama için düşük sıcaklık (0–10°C), yeterli hava akışı, yüksek nem ve yeterli süre gerekmektedir. Bütün bu koşullar sağlandığı takdirde tohumların çimlenme hızında bir artış sağlanmaktadır (Polat, 2007). Westwood, (1988), meyve ağacı tohumlarında soğukta katlama işleminin türler ve çeşitler arasında farklılık olduğunu belirtmiştir; şeftali için 45-100 gün, kayısı için 60 gün, armut için 60-90 gün ve badem için 20-30 gün arasında değişmektedir. Zerdali ve kayısı tohumları üzerinde yapılan önceki çalışmalar, farklı sonuçlar göstermektedir (Kaşka, 1970; Küden ve Kaşka, 1990), ancak hepsinde katlama işleminin ve bitki büyüme düzenleyicilerinin çimlenme hızı ve canlılığı üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Soğukta katlama işlemi için pek çok çalışma mevcuttur. Soğukta katlama işlemi için, Szymajda vd., (2019), 5 °C derecede 90 gün, Hussein vd., (2020), 5 °C derecede 45 gün, Szymajda vd., (2013), 4 °C derecede 70–90 gün, Polat, (2007), 7 °C derecede 45–60 gün, Marín vd., (2002), 4 °C derecede 60 gün, Radhi vd., (2013), 5 °C derecede 45 gün, Hakimi, (2019), 4 °C derecede 30 gün, Edizer vd., (2009), 4 °C derecede 105 gün, Çetinbaş ve Koyuncu, (2005), 4 °C derecede 120 gün uygulamalarının en uygun olduğunu tespit etmişlerdir.

Araştırmada tohumlar ilk önce kabuklu olarak  $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de 12 hafta boyunca soğukta katlama işlemine, daha sonra ise tohumların kabuk kısmı kırıldıktan ve testa kısmı soyulduktan sonra  $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de bir hafta boyunca soğukta nemli katlama işlemine tabi tutularak çimlenmeleri sağlanmıştır. Bekletme süresi ve sıcaklığı literatür ile karşılaştırıldığında en uygun  $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$  derece sıcaklıkta, 12 hafta ya da daha üstü sürede bekletmenin en uygun optimum koşullar olduğu düşünülmektedir.

Bitki kaynaklı duman bileşikleri, tohumların duyarlılığındaki değişikliklerden fitohormonlara ve ışık gereksinimlerine, tohum kabuğu morfolojisi ve geçirgenlik özelliklerine kadar tohumlarda birçok değişikliğe neden olmaktadır (Chiwocha vd., 2009). KAR1 birçok türün çimlenmesini uyardığından ve çok düşük konsantrasyonlarda ( $<1$  ppb veya  $1\text{ nM}$ ) hareket ettirdiğinden, diğer fitohormonların üretimini veya metabolizmasını etkileyerek hareket edebileceği varsayılmaktadır. Fitohormonlar olan gibberellik asit (GA) ve absisik asit (ABA), bitki gelişim süreçlerinde ve çevresel tepkilerde çoğunlukla antagonistik roller oynayan temel endojen düzenleyiciler olarak yaygın olarak kabul edilmektedir. GA, birçok türde dormansiyi kırarak tohum çimlenmesinin desteklenmesinde önemli bir rol oynarken, ABA tohum dormansisini indüklemektedir ve uzatmaktadır. DS ve KAR1'in GA ve ABA metabolizmasını etkilediğine dair pek çok çalışma vardır (Bewley, 1997; Commander vd., 2009; Daws vd., 2007; Grossmann, 1990; Kucera vd., 2005; Merritt vd., 2006; Nelson vd., 2009; Stevens vd., 2007; Van Staden vd., 1995). Fakat bu mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir. DS ve KAR'ların tohumları çimlendirdiğine dair pek çok çalışma mevcuttur ve bütün çalışmalar da bu maddelerin çimlendirme hızını arttırdığını göstermektedir (Baxter vd., 1994; Chumpookam vd., 2012; Çatav vd., 2012, 2014; 2015; 2018b; Kazancı, 2014; Kochanek vd., 2016; Tavşanoğlu, 2011; Tavşanoğlu vd., 2017). KAR'lar dormansiyi kırarak dormant durumda bulunan tohumun çimlenmesini teşvik ederler. Bitki materyalinden elde edilen dumanın (smoke water), Arabidopsis dahil olmak üzere 80 farklı cinsten 1200 bitki türünün tohum çimlenmesini olumlu yönde etkilediği çalışmalar sonucunda gösterilmiştir (Chiwocha vd., 2009). DS orman yangınları sonucunda toprak altında bulunan dormant durumdaki tohumların çimlenmesini teşvik ederek, yanan bölgede yeni bir floranın oluşmasını uyarır ve ayrıca Striga ve Orobanche gibi parazitik bitkilerin çimlenmesini uyardığı çeşitli çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir (De Cuyper vd., 2017). KAR'ler suda çözünür maddelerdir. KAR'ler, genellikle  $10^{-9}\text{ mol L}^{-1}$ 'nin altında olmak üzere çok düşük konsantrasyonlarda tohum çimlenmesini teşvik edici aktiviteye

sahiptirler (Light vd., 2009; Nelson vd., 2012). Fakat, DS'nin yüksek konsantrasyonları çimlenmeyi engellerken, daha düşük konsantrasyonlar çimlenmeyi teşvik edici bir etkiye sahip olduğundan, DS'nin çimlenme üzerinde “çift yönlü düzenleyici” bir etkisi olma eğiliminde olduğu bilinmektedir (Light vd., 2002). Bitki kaynaklı dumandan izole edilen bir bileşik olan 3,4,5-Trimethylfuran-2(5H)-one (2,3,4-trimethylbut-2-enolide) çimlenmeyi inhibe etme aktivitesinden sorumlu olduğu bulunmuştur (Light vd., 2010). Bu nedenle, uyarıcı biyolojik aktivitesini en üst düzeye çıkarmak için, kullanımdan önce DS'nin genellikle bitki türüne bağlı olarak 1:250, 1:500, 1:1000, 1:1500 ve 1:2000 (v/v) oranlarında su ile seyreltilmesi gerekmektedir (Van Staden vd., 2004). Yüksek konsantrasyonlarda (1:100 ve daha az seyreltme) DS çimlenmeyi engellemektedir. Bununla birlikte, daha düşük konsantrasyonlar (1:1000 seyreltme), kontrole kıyasla önemli ölçüde çimlenmeyi arttırmaktadır (Light vd., 2002). Literatür verileri ile uyumlu olarak bu araştırmada kayısı tohumları için DS konsantrasyonu düştükçe çimlenmenin arttığı, KAR1'de ise konsantrasyon arttıkça çimlenmenin arttığı gözlenmiştir. DS için en iyi çimlenme optimizasyonu 1:1000 konsantrasyonda, KAR1 için ise 1µM konsantrasyonda sağlanmıştır. 1:5000 ve 1:10000 DS konsantrasyonlarında çimlenme yüzdesinde azalma gözlenmiştir. Bunun seyreltme oranı arttıkça içeriğinde var olan 3,4,5-Trimethylfuran-2(5H)-one maddesinin yanı sıra KAR maddesinin yoğunluğunda da azalma olduğu ve çimlenme hızını yavaşlattığını düşünmekteyiz. 5 µM ve 10 µM KAR1 konsantrasyonunda da çimlenme yüzdesinde azalma gözlenmiştir. Bunun da konsantrasyon arttıkça tohum için toksik etki yaratarak çimlenme hızını yavaşlattığını düşünmekteyiz.

Hem DS hem de KAR1'in diğer bitki büyüme düzenleyicileri ile etkileşime girdiği ve sıklıkla sitokin ve oksin benzeri aktiviteler sergilediğine dair varsayımlar mevcuttur (Chiwocha vd., 2009). Bu fitohormonlar gibi aktiviteler sergilediği düşünüldüğünden, KAR ve DS'nin çimlenme sonrasında, sürgün ve kök uzunluğunda, fide gelişimi ve uzunluğunda, yaprak sayısında, yaprak alanında, kök ve sürgün kuru ve yaş ağırlığında, gövde kalınlığında ve meyve sayısında önemli ölçüde artış sağladığı çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır (Baxter vd., 1994; Chumpookam vd., 2012; Çatav vd., 2018b; Kazancı, 2014; Kulkarni vd., 2006; 2007; 2008; Van Staden vd., 2006). Domates, bamyaya, fasulye ve mısır tohumları ile yapılan bir çalışmaya göre DS hem kök hem de sürgün uzunluklarını artırarak fide büyümesini önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur. Sonuçlar dumandan türetilen bileşiğin çimlenme sonrasında da uyarıcı etkiler sergilediğini ve bir bitki büyüme destekleyicisi olarak

kullanılabileceğini göstermektedir (Van Staden vd., 2006). Bamyacı ve domates yapraklarına uygulanan DS fide büyümesini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Bamyacı fidelerinin DS ile muamele edilmesi, sürgün/kök uzunluğunda, sürgün taze/kuru ağırlığında, yaprak sayısında, toplam yaprak alanında ve gövde kalınlığında önemli bir artış gösterdiği bulunmuştur. Böylelikle DS'nin yapraklara uygulanmasının, sebze mahsullerinin fide büyümesini arttırmak için faydalı ve ucuz bir teknik olabileceği düşünülmektedir (Kulkarni vd., 2007). Bu araştırmanın sonuçları değerlendirildiğinde KAR1 ve DS sürgün, kök ve gövde uzunluğunda bir artışa neden olmuştur. Yapılan korelasyon matrisi verilerine göre gövde uzunluğu ve kök uzunluğu arasında, gövde uzunluğu ve yaprak alanı arasında pozitif korelasyon vardır. Ayrıca kök uzunluğu ve yaprak alanı arasında da pozitif korelasyon olduğunu korelasyon matrisi göstermektedir. Literatür verileri ile uyumlu olarak DS ve KAR1 gövde ve kök uzunluğuna ve ayrıca yaprak alanına daha etkili olmuştur. Fakat korelasyon matrisi verilerine göre yaprak sayısı ve gövde çapı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ve literatür verilerinin aksine bu çalışmada yaprak sayısı ve gövde çapına DS ve KAR1'in etkinliği bulunmamıştır. Çimlenme sonuçlarının aksine morfolojik verilerde DS için en iyi konsantrasyon 1:100 olmuştur. Bunun viyollerdeki toprakların Hoagland çözeltilisi ile sulandığında topraktaki DS konsantrasyonunun azaldığı ve dolayısı ile içeriğindeki KAR konsantrasyonunun da azalmasından kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü doğada KAR'lar yağmurla yıkanabilir ve kumlu topraklarda nispeten hızlı bir şekilde ayrışabilirler, bu nedenle konsantrasyonları sürekli olarak düşmektedir (Flematti vd., 2015).

Bitkilerden elde edilmiş dumanın bitki gelişimi üzerine olumlu etki gösterdiğine dair pek çok çalışma mevcuttur. DS ve içeriğinde yapılan çalışmalar sonucunda var olduğu tespit edilen KAR (Flematti vd., 2004) dormansiyi kırarak tohum çimlenmesini (Chiwocha vd., 2009; Çatav vd., 2018b; De Cuyper vd., 2017; Kazancı, 2014), yan kök gelişimini (De Cuyper vd., 2017; Kulkarni vd., 2006; Van Staden vd., 2006), sürgün gelişimini (Nelson vd., 2012), fide de boyca uzamayı (Kulkarni vd., 2007; Van Staden vd., 2006) teşvik etmektedir. KAR'lar bitki sistemi tarafından, oksidatif stres, kuraklık, düşük ışık yoğunlukları, yüksek sıcaklık, tuzluluk, düşük ozmotik potansiyel gibi abiyotik faktörlerin farklı kombinasyonlarına karşı koruma sağlamak için kullanıldıklarına dair pek çok çalışma mevcuttur (Banerjee vd., 2019; Ghebrehiwot vd., 2008; Jamil vd., 2014). Tuzluluk, bitkilerin su alma kabiliyetini kısıtlayan ve iyon toksisitesine neden olan abiyotik stres faktörlerinden bir tanesidir (Munns ve Tester, 2008). Tuz stresinin neden olduğu bu iki koşulun hücre

büyüme hızını, yaprak gelişimini, stoma iletkenliğini, fotosentezi, iyon dengesini ve oksidatif homeostazi olumsuz etkilediği bilinmektedir (AbdElgawad vd., 2016; Jiang ve Deyholos, 2006; Shabala ve Munns, 2012). Bitkilerin tuzluluğa karşı tepkileri fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler seviyelerde meydana gelmektedir. Örneğin, antioksidan enzimlerin artan aktiviteleri (CAT, SOD, GPX, vb.), tuz stresinin neden olduğu oksidatif hasarın hafifletilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Krasensky ve Jonak, 2012; Yang vd., 2011). Bitki dokularında prolin ve fenolik bileşiklerin birikmesinin de tuzluluğa karşı toleransı iyileştirdiği bildirilmiştir (Nxele vd., 2017; Waskiewicz vd., 2013). Tuz stresine maruz kalma, artan elektrolit sızıntısı, prolin içeriği, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi ve MDA birikimi ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalar tuz stresi altında bulunan bitkiye DS ya da KAR uygulamasının, MDA birikimi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminin azaldığını gösterirken, prolin birikimini daha da arttırdığını göstermektedir (Çatav vd., 2021; Hayat vd., 2022; Shah vd., 2021, 2020; Sharifi ve Shirani Bidabadi, 2020). Yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak bu çalışmada sadece tuz stresine maruz kalan bitkide MDA birikiminin arttığı, tuz stresi altındaki bitkiye DS ve KAR uygulandığında ise MDA birikiminde azalma olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar DS'nin ve KAR'ın tuz stresi altındaki kayısı bitkisinde ROT'un toksik etkilerini en aza indirebileceğini göstermektedir. Antioksidan enzimler, biyomolekülleri ve hücreleri ROT kaynaklı oksidatif hasara karşı korumada çok önemli bir rol oynar. Bu enzimlerin gen anlatımının ve aktivitesinin, zorlu çevre koşullarına ve bitki büyüme düzenleyicilerine vermiş oldukları yanıtlar birçok bitki türünde değişiklik gösterdiği bilinmektedir (Sharma vd., 2012; Vardhini ve Anjum, 2015). Araştırmada, DS'nin ve KAR'ın tuzluluk stresine karşı çeşitli antioksidan enzimlerin (CAT, SOD ve GPX) transkripsiyon seviyeleri üzerindeki etkileri ayrı ayrı araştırılmıştır. Önceki çalışmalarla uyumlu olarak (Çatav vd., 2021; Hayat vd., 2022; Shah vd., 2020; Sharifi ve Shirani, 2020), sonuçlarımız DS ve KAR'ın tuz stresinde CAT, SOD ve GPX genlerinin ekspresyonunu arttırdığını işaret etmektedir. Sharifi ve Shirani, (2020)'nin yapmış olduğu çalışmaya göre, KAR uygulamasının CAT ve SOD enzimlerinin aktivitelerini tuzluluk stresi ile arttırdığı belirtilmiştir. Böylelikle KAR'ın tuzluluk stresine karşı adaptasyon mekanizmasını harekete geçirdiği ortaya konmuştur. Araştırmanın aksine GPX aktivitesinin ise kontrole kıyasla azaldığı belirtilmiştir. Hayat vd., (2022)'nin yapmış olduğu çalışmaya göre, buğday bitkilerine uygulanan DS'nin SOD, APX ve POX enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı belirtilmiştir. Bu çalışmada da kullanılan DS uygulamasında kontrole göre, SOD aktivitesinde artış olduğu ve tuz stresinin vermiş olduğu hasara karşı bitkinin koruma



mekanizmasını harekete geçirdiği ortaya konmuştur. Çatav vd., (2021)'in yapmış olduğu çalışmaya göre, DS uygulaması ile tuz stresinin Cu/Zn-SOD, Fe-SOD ve Mn-SOD genlerinin anlatımını arttırdığı belirtilmiştir. Sonuç, bu araştırma ve Hayat vd., (2022)'nin yapmış olduğu çalışma ile örtüşmektedir. Ayrıca yapılan çalışmaya göre SOD ve APX aktivitelerinin kontrol fidelerine göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir ve bu enzimleri kodlayan genlerin aşırı anlatımının, tuz toleransını iyileştirmede çok önemli bir rolü olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca yapılan çalışma ile tuz deney grubunda CAT geninin anlatımında azalmaya yol açmasına rağmen, CAT aktivitesini değiştirmediği gösterilmiştir. Bu bulgu araştırma ile uyumlu olarak yapmış olduğumuz çalışmada da tuz grubu kontrole göre anlatımında azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Diğer literatür ve bu araştırma çalışmasındaki veriler ile Shah vd., (2020, 2021)'nin yapmış olduğu çalışmanın sonuçları uyumlu olarak, tuzluluk stresi altında KAR1 ile muamele edilmiş buğday fidelerinde SOD, CAT, POX ve APX'in gen anlatımları önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Literatür verileri de doğrulamaktadır ki, DS ve KAR tuzluluk stresine karşı antioksidan enzimlerin aktivitesini ve gen anlatımını arttırmaktadır. KAR'ların endojen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini, MDA birikimini ve prolin birikimini kontrol edebileceği, elektrolit sızıntısını önleyebileceği ve abiyotik stresler altında membran bütünlüğünü iyileştirebileceği görülmektedir.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Duman suyunun tohum çimlenmesi, fide büyümesi, sürgün ve kök gelişimi, abiyotik stres faktörleri üzerindeki etkisi, farklı ortamlarda yetişen çok sayıda bitki türünde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, konsantrasyona ve maruz kalma süresine bağlı olarak dumanın bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde teşvik edici etkisi olduğunu göstermektedir. Dumanın uyarıcı aktivitesi esas olarak iki halka yapısından oluşan bir bileşik ailesi olan karrikinlerden (KAR1-KAR6) kaynaklanmaktadır. Ayrıca DS yüksek konsantrasyonlarda karrikinolide (KAR1) karşı antagonistik bir etki gösteren 3,4,5-trimetilfuran-2(5H)-one, 5,5-dimetilfuran-2(5H)-one ve 5-etilfuran-2(5H)-one gibi bileşikler içerir. Ek olarak, katekol ve gliseronitril (bir siyanohidrin) gibi bazı duman kimyasallarının çimlenme ve fide büyümesi üzerinde çift fazlı doza bağlı bir etki sergilediği bilinmektedir (Baldwin vd., 1994; Çatav vd., 2018a; Daws vd., 2007; Downes vd., 2013; Flematti vd., 2015; Van Staden vd., 2006). Araştırmada 1 kg yonca samanı, 275°C sıcaklıkta 60 dk. boyunca kül olana kadar yakılarak 1 L su içerisinde çözünmesi sağlanmış ve DS elde edilmiştir. Araştırmada geliştirdiğimiz yöntem sayesinde DS'nin içerisinde literatüre göre daha yoğun KAR1 ( 8,70398 ng/µl ) maddesi elde edilmiştir. Ayrıca dumanın çözündüğü su dolu nuçe erleninin altına buz aküsü konmasının, dumanın su içerisindeki çözünürlüğünü arttırdığı ve su içerisinde daha fazla KAR1 maddesinin tutunmasını sağladığı sonucuna varılmıştır.

Kayısı (*P. armeniaca*) bitkisi hem sofralık hem de kurutmalık olarak kullanılabilen ticari öneme sahip bir tarım ürünüdür ve Türkiye kayısı üretimi konusunda dünyada önde gelen ülkelerden biridir. DS ve KAR, birçok bitkide çalışılmış olsa da ağaç türleri üzerine yapılan çalışmalar hiç yoktur. Literatürde kayısı bitkisi ve DS-KAR ilişkisi hakkında bir yayın bulunmamaktadır ve bu çalışma literatürde bir ilk olacaktır. Araştırma Türkiye'de sofralık kayısı olarak kullanılan Şalak kayısı çeşidinin tohumları DS ve KAR1 ile çimlendirilmiş ve çimlenen tohumlar toprağa aktararak morfolojik olarak gelişimleri değerlendirilmiştir. Çimlenme yönünden elde edilen sonuçlar DS ve KAR1 literatür verileri ile paralel olarak çimlenmeye konsantrasyona bağlı olarak katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Araştırmada DS konsantrasyonu azaldıkça çimlenmenin arttığı, KAR1 konsantrasyonu arttıkça çimlenmenin arttığı bulunmuştur. DS ve KAR1 çimlenme sonrasında bitkinin

gelişiminde önemli derecede katkıda bulunduğu literatür verileri ile kanıtlanmıştır. Araştırmada KAR1 ve DS sürgün, kök ve gövde uzunluğunda bir artışa neden olmasına rağmen, literatür verileri ile kıyaslandığında yaprak sayısı, gövde çapı ve yaprak alanında diğer çalışmaların aksine anlamlı bir sonuç bulunamadığı tespit edilmiştir.

Kayısı tuzluluk stresi bakımından hassas bitkiler grubuna girmektedir. Iğdır Ovası toprak özelliği bakımından tuzlu toprak kategorisine girmektedir. Çalışmada tuz konsantrasyonunu belirlemek için kayısı toplanan ağaçların çevresinden örnekler alınıp EC değerlerine bakılmıştır. Laboratuvar ortamında steril torf-perlit içeren topraklara 50 ve 100 mM tuz uygulanıp EC değerleri ölçülmüş ve arazideki toprak EC değeri ile kıyaslanıp tuz konsantrasyonuna karar verilmiştir. Bu çalışmada toprağa aktarılan tohumlar morfolojik olarak değerlendirildikten sonra 100 mM tuz uygulaması yapılmıştır. Uygulamadan sonra gen anlatımı çalışması için doku örnekleri toplanmış ve sıvı azotta dondurulmuştur. DS ve KAR1'in çimlenme ve morfolojik yönden bitki gelişimine katkıda buldukları pek çok çalışma ile kanıtlanmış olmasına rağmen, abiyotik stres faktörlerinde toleransı arttırdığına dair çok az çalışma mevcuttur. Araştırmada DS ve KAR1'in antioksidan enzimlerin (CAT, SOD ve GPX) transkripsiyon seviyelerini arttırarak ve lipit peroksidasyon (MDA) miktarını ise azaltarak ROT'un zararlı etkilerine karşı bitkiyi koruduğu kanıtlanmıştır.

DS tarımda, bahçecilikte ve laboratuvar çalışmalarında kullanım potansiyeli olan elde etmesi ucuz ve basit, uzun yıllar saklanıp kullanılabilinecek bir maddedir. Bir çok çalışmada bitkiler üzerinde bitki büyüme düzenleyicisi gibi rol aldığı için çok düşük konsantrasyonlarda bile tohum çimlenmesini, sürgün, kök, bitki büyümesini destekleyen ekonomik bir maddedir. Ticari olarak temin edilebilen bitki büyüme düzenleyicileri (giberellik asit, oksin, sitokinin, absisik asit, strigolakton vb.) hem çok pahalıdır, hem uzun süre saklanamazlar hem de ısıya karşı hassastırlar. Böylelikle bu çalışmada tasarlanan DS hazırlama sistemi ile diğer bitki büyüme düzenleyicilerinden daha düşük maliyetli, elde edilme yöntemi basit, çok daha fazla miktarda üretilen, çok yüksek konsantrasyonlarda, ısıya dayanıklı, uzun yıllar saklanabilen ve kullanılabilen DS elde edilebilmektedir. Diğer kullanılan sistemlerden farklı olarak bu çalışmada, yanma sıcaklığının ve süresinin ayarlanabiliyor olması da daha kontrollü ve etkin performans sağlamaktadır. DS potansiyel olarak bitki doku kültürü, moleküler biyoloji, bitki fizyolojisi, bitki koruma, tarla ve bahçe bitkilerinde kullanılabilir. Bundan sonra yapılması planlanan bilimsel araştırmalarda,

DS eldesi için daha farklı ve çeşitli bitki türlerinin yakım için kullanılması, büyük ölçekli üretimin yapılması, çimlenme ve morfolojik gelişim için daha çeşitli bitki ve ağaç formundaki bitkilerin kullanılması, bitkiye farklı abiyotik stres faktörleri (oksidatif stres, kuraklık, düşük ışık yoğunlukları, yüksek sıcaklık, düşük ozmotik potansiyel vs.) uygulanıp hem gen anlatımı seviyesinde hem de biyokimyasal olarak çeşitli antioksidan enzim (APX, GR, POX, DHAR, MDHAR, GOPX ve GST vb.) aktivitelerine bakılması ve bunun yanında prolin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA seviyelerine bakılması yararlı olacaktır.

Dünyanın milyarlarca yıllık geçmişinde tüm canlılık mucizevi molekül olan klorofil pigmenti üzerine kurulmuştur. Bu moleküle sahip canlılar tarafından üretilen besin molekülleri, günümüze kadar tüm canlılığın mimarı olmuştur. Canlılar dünya tarihi boyunca sayılamayacak kadar çok felakete maruz kalmış, milyonlarca tür yok olmuş, milyonlarca tür ortaya çıkmıştır. Canlılar sadece kendi türleri ile değil, çevresinde yaşamını sürdüren diğer tüm canlılar ve çevresel etmenler ile ekosistemi oluşturmaktadır. Bu ekosistemde her bir canlı, çevresinden gelen sinyallere göre yaşam döngüsünü şekillendirmektedir. Dünya tarihi boyunca çeşitli nedenler sonucunda (volkanik aktiviteler, meteoritler, doğal yangınlar v.b.) gerçekleşen büyük yangınlar sonucunda bile bitkiler günümüze kadar yaşamlarını devam ettirebilmişlerdir. Yangın bitkiler için bir son değil yeniden başlangıcın bir işaretidir. Onlarca yıldır toprak altında biriktirmiş oldukları tohum bankaları sayesinde, yangından sonra oluşan dumanın yağmur suları ile yıkanması sonucunda tohumlar uzun uykularından uyanıp filizlenerek doğaya tekrardan hayat vermektedir. Doğanın bu özelliğinden dolayı doğal ya da insan eli ile çıkan yangınlarda, yanmış bölgeye tekrardan ağaçlandırma çalışması yapmak yerine doğanın tekrardan uyanışını izlemek doğru bir tercih olacaktır. Bu araştırmaya da konu olan duman suyunun içinde bulunan onlarca molekülden biri olan karrikinlerin bitkiler ile olan etkileşimi, birlikte evrimleşmenin en yaygın ve önemli örneklerinden biridir. Araştırmada elde edilen veriler, bu etkileşimin önemini tekrar ortaya koyarken, karrikin maddesinin yeni bir özelliği olan tuzluluk stresine karşı bitkilerin koruma mekanizmasına yardımcı olması yine bu çalışma ile ilk defa ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen verilerin bitkilerin çevreleri ile olan etkileşimi, çimlenme fizyolojisi, abiyotik strese karşı bitkilerin korunmasında yeni ve daha etkin moleküllerin keşfi konularında bilim dünyasına önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKÇA

- Abdelsattar, M., Ismail, R. M., El-heba, G. A. A., Nagaty, M. A., Mangury, K. El, Youssef, A. B. ve Hosny, G. M. (2020). "Epigenetic regulation in development of *Prunus persica* during regeneration using cotyledon explant". *Plant Archives*, 20(2), 8291-8302.
- Açkurt, F. (1999). Sağlıklı beslenmede kayısının önemi ve yeni kayısı ürünleri. I. Kayısı şurası sonuç raporu, s, 2129.
- Aktürk, Z. (2009). Kirazın (*Prunus avium* L.) *in vitro* mikroçoğaltımı. Doktora Tezi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
- Anonim, 2022. Tarım ve Orman Bakanlığı Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Tescilli Çeşitlerimiz. Erişim: 14 Ekim 2022, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/kayisi/Link/8/Tescilli-Cesitlerimiz>
- Arıcı, Ş. E. ve Eraslan, F. (2012). "In vitro koşullarda Colt (*Prunus avium* X *Prunus pseudocerasus*) kiraz anacının sürgün gelişimi, klorofil ve mineral madde içeriği üzerine tuz stresinin etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(2), 41-48.
- Asma, B. M. (Ed). (2011). *Her Yönüyle Kayısı*, Uyum Ajans: Ankara.
- Aydoğdu, B. (2016). Iğdır Kayısının İktisadi Durumu. Serhat Kalkınma Ajansı, 42.
- Baldwin, I. T., Staszak K. L. ve Davidson, R. (1994). "Up in smoke: I. Smoke-derived germination cues for postfire annual, *Nicotiana attenuata* torr. Ex. Watson". *Journal of Chemical Ecology*, 20(9), 2345-2371. <https://doi.org/10.1007/BF02033207>
- Balla, I. ve Brozik, S. (1996). "Embryo culture of sweet cherry hybrids". *Acta Horticulturae*, 410, 385-386.
- Banerjee, A., Tripathi, D. K. ve Roychoudhury, A. (2019). "The karrikin 'calisthenics': Can compounds derived from smoke help in stress tolerance?". *Physiologia Plantarum*, 165(2), 290-302. <https://doi.org/10.1111/ppl.12836>

- Baxter, B. J. M. ve Van Staden, J. (1994). "Plant-derived smoke: an effective seed pre-treatment". *Plant Growth Regulation*, 14(3), 279-282. <https://doi.org/10.1007/BF00024804>
- Baxter, B. J. M., Van Staden, J., Granger, J. E. ve Brown, N. A. C. (1994). "Plant-derived smoke and smoke extracts stimulate seed germination of the fire-climax grass *Themeda triandra*". *Environmental and Experimental Botany*, 34(2), 217-223. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(94\)90042-6](https://doi.org/10.1016/0098-8472(94)90042-6)
- Beeby, A. ve Brennan, A. M. (1997). *First Ecology*. Chapman ve Hall: London.
- Bernstein, L. (1965). *Salt tolerance of fruit crops* (No. 292). Agriculture Research Service, US Department of Agriculture.
- Bernstein, L., Brown, J. W. ve Hayward, H. E. (1956). "The influence of rootstock on growth and salt accumulation in stone fruit trees and almonds". *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 68, 86-95.
- Bewley, J. (1997). "Seed germination and dormancy". *Plant Cell*, 9, 1055-1066.
- Carmona M, E. ve Petri, C. (2020). "Adventitious regeneration from mature seed-derived tissues of *Prunus cerasifera* and *Prunus insititia*". *Scientia Horticulturae*, 259, 108746. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108746>
- Chatzissavvidis, C., Veneti, G., Papadakis, I. ve Therios, I. (2008). "Effect of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on the antioxidant mechanism of leaves and stems of the rootstock CAB-6P (*Prunus cerasus* L.) under in vitro conditions". *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(1), 37-45. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9411-z>
- Chiwocha, S. D. S., Dixon, K. W., Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Merritt, D. J., Nelson, D. C., ... Stevens, J. C. (2009). "Karrikins: A new family of plant growth regulators in smoke". *Plant Science*, 177(4), 252-256. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.06.007>
- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E. ve Mittler, R. (2017). "Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination". *Plant Journal*, 90(5), 856-867. <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>

- Christensen, N. L. (1985). "Shrubland Fire Regimes and Their Evolutionary Consequences". P. S. T. A ve P. S. White (eds.). İçinde The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics (s. 85-100). Academic Press: London.
- Chumpookam, J., Lin, H.-L. ve Shiesh, C.-C. (2012). "Effect of smoke-water on seed germination and seedling growth of Papaya (*Carica papaya* cv.Tainung No.2). HortScience, 47(6), 741-744. <https://doi.org/10.37855/jah.2012.v14i02.23>
- Commander, L., Merritt, D., Rokich, D. ve Dixon, K. (2009). "Seed biology of Australian arid zone species: germination of 18 species used for rehabilitation". Journal of Arid Environments, 73, 617-625.
- Coons, J., Coutant, N., Lawrence, B., Finn, D. ve Finn, S. (2014). "An effective system to produce smoke solutions from dried plant tissue for seed germination studies". Applications in Plant Sciences, 2(3), 1300097. <https://doi.org/10.3732/apps.1300097>
- Çatav, Ş. S., Bekar, I., Ateş, B. S., Ergan, G., Oymak, F., Ülker, E. D. ve Tavşanoğlu, Ç. (2012). "Germination response of five eastern Mediterranean woody species to smoke solutions derived from various plants". Turkish Journal of Botany, 36(5), 480-487. <https://doi.org/10.3906/bot-1111-12>
- Çatav, Ş. S., Elgin, E. S., Dağ, Ç., Stark, J. L. ve Küçükakyüz, K. (2018a). "NMR-based metabolomics reveals that plant-derived smoke stimulates root growth via affecting carbohydrate and energy metabolism in maize". Metabolomics, 14(11), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1440-y>
- Çatav, Ş. S., Küçükakyüz, K., Akbaş, K. ve Tavşanoğlu, Ç. (2014). "Smoke-enhanced seed germination in Mediterranean Lamiaceae". Seed Science Research, 24(3), 257-264. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000142>
- Çatav, Ş. S., Küçükakyüz, K., Tavşanoğlu, Ç. ve Pausas, J. G. (2018b). "Effect of fire-derived chemicals on germination and seedling growth in Mediterranean plant species". Basic and Applied Ecology, 30, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.05.005>
- Çatav, Ş. S., Küçükakyüz, K., Tavşanoğlu, Ç. ve Akbaş, K. (2015). "Effects of aqueous smoke and nitrate treatments on germination of 12 eastern mediterranean basin

- plants". *Annales Botanici Fennici*, 52(1–2), 93-100.  
<https://doi.org/10.5735/085.052.0211>
- Çatav, Ş. S., Surgun A. Y. ve Zemheri-Navruz, F. (2021). "Physiological, biochemical, and molecular responses of wheat seedlings to salinity and plant-derived smoke". *South African Journal of Botany*, 139, 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.011>
- Çetinbaş, M. ve Koyuncu, F. (2005). "Soğukta nemli katlama ve tohum kabuğunun kuş kirazı (*Prunus avium* l.) tohumlarında dormansinin kırılması üzerine etkileri". *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(3), 417-423.
- Daws, M., Davies, J., Pritchard, H., N.A.C, B. ve Van Staden, J. (2007). "Butenolide from plant-derived smoke enhances germination and seedling growth of arable weeds species". *Plant Growth Regul*, 51, 73-82.
- De Cuyper, C., Struk, S., Braem, L., Gevaert, K., De Jaeger, G. ve Goormachtig, S. (2017). "Strigolactones, karrikins and beyond". *Plant Cell and Environment*, 40(9), 1691-1703. <https://doi.org/10.1111/pce.12996>
- De Lange, J. H. ve Boucher, C. (1990). "Autecological studies on *Audouinia capitata* (Bruniaceae). I. Plant-derived smoke as a seed germination cue". *South African Journal of Botany*, 56(6), 700-703. [https://doi.org/10.1016/s0254-6299\(16\)31009-2](https://doi.org/10.1016/s0254-6299(16)31009-2)
- Demirbaş, S., Vlachonasios, K. E., Acar, O. ve Kaldis, A. (2013). "The effect of salt stress on *Arabidopsis thaliana* and *Phelipanche ramosa* interaction". *Weed Research*, 53(6), 452-460.
- Demirbaş, S. ve Acar, O. (2017). "Physiological and biochemical defense reactions of *Arabidopsis thaliana* to *Phelipanche ramosa* infection and salt stress". *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(3), 2277-2284.
- Demirbaş, S. ve Balkan A. (2018). "Tuz stresi koşullarında bazı tritikale çeşitlerinin hidrojen peroksit ön uygulamasına tepkileri." *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(2), 5-13.
- Dorak, M. T. (2007). *Real-time PCR*. Taylor and Francis Group: New York.
- Downes, K. S., Light, M. E., Pošta, M., Kohout, L. ve Van Staden, J. (2013). "Comparison of germination responses of *Anigozanthos flavidus* (Haemodoraceae), *Gyrostemon racemiger* and *Gyrostemon ramulosus* (Gyrostemonaceae) to smoke-water and the



- smoke-derived compounds karrikinolide (KAR1) and glyceronitrile”. *Annals of Botany*, 111(3), 489-497. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs300>
- Edizer, Y., Hancı, F., Güneş, M., Üniversitesi, G., Fakültesi, Z. ve Bölümü, B. B. (2009). “Kastamonu yöresinde yetişen bazı kuş kirazı (*Prunus avium* L.) tiplerinin çimlenme özelliklerinin belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 7-11. <https://doi.org/10.13002/v2009i1.5000012570>
- Eraslan, F., Arıcı, Ş. E., Erdal, İ. ve Küçükyumuk, Z. (2016). “Kiraz anaçlarının *in vitro* koşullarda tuz stresine tolerans mekanizmalarının fizyolojik parametreler ve antioksidan enzim izoformları ile belirlenmesi”. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 22, 117-128.
- Ertürk, U., Sivritepe, N., Yerlikaya, C., Bor, M., Ozdemir, F. ve Turkan, I. (2007). “Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*”. *Biologia Plantarum*, 51(3), 597-600. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0132-7>
- Fadl, M. S., Bas, A. G. ve Tayel, S. (1978). “The effect of low temperature on the dormancy “Fayoumi” apricot seeds and on activities on native inhibit existing in their seed coats”. *Egypt Journal of Horticulture*, 5(2), 105-114.
- Faust, M., Suranyi, D. ve Nyujto, F. (1998). “Origin and Dissemination of Apricot”. *Horticultural Reviews*, 22, 248-249.
- Flematti, G. R., Dixon, K. W. ve Smith, S. M. (2015). “What are karrikins and how were they “discovered” by plants?”. *BMC Biology*, 13(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0219-0>
- Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. ve Trengove, R. D. (2004). “A compound from smoke that promotes seed germination”. *Science*, 305, 977. <https://doi.org/10.1126/science.1099944>
- Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. ve Trengove, R. D. (2005). “Synthesis of the seed germination stimulant 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one”. *Tetrahedron Letters*, 46(34), 5719-5721. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.06.077>
- Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. ve Trengove, R. D. (2009). “Identification of alkyl substituted 2H-furo[2,3-c]pyran-2-ones as germination stimulants present in

- smoke”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9475-9480.  
<https://doi.org/10.1021/jf9028128>
- Flematti, G. R., Scaffidi, A., Dixon, K. W., Smith, S. M. ve Ghisalberti, E. L. (2011). “Production of the seed germination stimulant karrikinolide from combustion of simple carbohydrates”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1195-1198. <https://doi.org/10.1021/jf1041728>
- Gentile, A., Monticelli, S. ve Damiano, C. (2002). “Adventitious shoot regeneration in peach [Prunus persica (L.) Batsch]”. *Plant Cell Reports*, 20(11), 1011-1016.  
<https://doi.org/10.1007/s00299-002-0451-2>
- Gharaghani, A., Solhjoo, S. ve Oraguzie, N. (2017). “A review of genetic resources of almonds and stone fruits (Prunus spp.) in Iran”. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64, 611-640.
- Ghayyad, M. A. (2018). “Effects of Gibberellic Acid and Low Temperature on Germination of Some Prunus Species Embryos (Without Cotyledons) Under Laboratory Conditions”. *Acta Horticulturae et Regiotecturae*, 21(2), 42-47.  
<https://doi.org/10.2478/ahr-2018-0010>
- Ghebrehiwot, H. M., Kulkarni, M. G., Kirkman, K. P. ve Van Staden, J. (2008). “Smoke-water and a smoke-isolated butenolide improve germination and seedling vigour of Eragrostis tef (Zucc.) Trotter under high temperature and low osmotic potential”. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(4), 270-277.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00321.x>
- Gill, S. S. ve Tuteja, N. (2010). “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Grossmann, K. (1990). “Plant growth retardants as tools in physiological research”. *Physiologia Plantarum*, 78, 640-648.
- Gucci, R. ve Tattini, M. (1997). “Salinity tolerance in olive”. *Horticultural Reviews*, 21, 177-214.

- Gupta, S., Hrdlicka, J., Ngoroyemoto, N., Nemahunguni, Nkhanedzeni, K., Gucky, T., Novak, O., ... Van Staden, J. (2019). "Preparation and standardisation of smoke-water for seed germination and plant growth stimulation". *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-8.
- Hakimi, R. (2019). "Afganistan kökenli bazı badem genotiplerinin tohum çimlenmesi ve çöğür gelişimi üzerine katlama süresinin etkileri". Harran Üniversitesi.
- Hayat, N., Afroz, N., Rehman, S., Bukhari, S. H., Iqbal, K., Khatoon, A., ... Nawaz, G. (2022). "Plant-derived smoke ameliorates salt stress in wheat by enhancing expressions of stress-responsive genes and antioxidant enzymatic activity". *Agronomy*, 12(1), 28. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010028>
- Hokanson, K. E. ve Pooler, M. R. (2000). "Regeneration of ornamental cherry (*Prunus*) taxa from mature stored seed". *HortScience*, 35(4), 745-748. <https://doi.org/10.21273/hortsci.35.4.745>
- Hrdlička, J., Gucký, T., Novák, O., Kulkarni, M., Gupta, S., Van Staden, J. ve Doležal, K. (2019). "Quantification of karrikins in smoke water using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Plant Methods*, 15(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0467-z>
- Hussein, S. A., Noori, A. M. ve Kanber, H. S. (2020). "Stratification period with different agricultural media roll on seeds germination ratio and humic acid fertilization on apricot seedlings *Prunus armeniaca* L. growth". *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(71-72), 23-29.
- Jain, N. ve Van Staden, J. (2007). "The potential of the smoke-derived compound 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one as a priming agent for tomato seeds". *Seed Science Research*, 17(3), 175-181. <https://doi.org/10.1017/S0960258507785896>
- Jakubowski, T. (2004). *Uprawa moreli*. Hortpress.
- Jamil, M., Kanwal, M., Aslam, M. M., Khan, S. U., Malook, I., Tu, J. ve Rehman, S. (2014). "Effect of plant-derived smoke priming on physiological and biochemical characteristics of rice under salt stress condition". *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), 159-170.

- Karaoğlu, M. ve Yalçın, A. M. (2018). “Toprak tuzluluğu ve ığdır ovası örneği”. *Journal of Agriculture*, 1(1), 27-41.
- Karakaya, A., U., Ok, Sonay S., Çaycı, G., Kendir, H., Arcak, S., Koç, A., Açar, A. G., Omar, B., Akça, M. O., Temiz, Ç., Gönülal, E. ve Özbedel, N. D. (2018). Tuzlu ve alkali alanlarda kullanılabilir olacak bazı bitki türlerinin tespiti ve adaptasyonu projesi. Tarım ve Orman Bakanlığı Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü, 1-84.
- Kaşka, N. (1970). “The studies on the ABA concentration of Zerdali and Kütahya sour cheery seeds and fl uctuation of them during stratifi cation duration”. In Ankara University Agriculture Faculty Pres: Ankara.
- Kazancı, D. D. (2014). “Akdeniz bitkilerinin yangın sonrası çimlenme özelliklerinin belirlenmesi determination”. Hacettepe Üniversitesi.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S. ve Drummond, A. (2012). “Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data”. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Keeley, J. E., Morton, B. A., Pedrosa, A. ve Trotter, P. (1985). “Role of allelopathy , heat and charred wood in the germination of chaparral herbs and suffrutescents. *Journal of Ecology*, 73(2), 445-458.
- Keeley, J E. ve Fotheringham, C. J. (1997). “Trace gas emissions and smoke-induced seed germination”. *Science*, 276, 1248-1250.
- Keeley, Jon E. ve Fotheringham, C. J. (1998). “Smoke-induced seed germination in California chaparral”. *Ecology*, 79(7), 2320-2336. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1998\)079\[2320:SISGIC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[2320:SISGIC]2.0.CO;2)
- Keeley, J. E. (1995). “Seed-Germination Patterns in Fire-Prone Mediterranean-Climate Regions. M. T. K. Arroyo, P. H. Zedler, ve M. D. Fox (eds.), İçinde *Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California and Australia* (s. 239-273). Springer-Verlag: New York.

- Keeley, S. C. ve Pizzorno, M. (1986). "Charred wood stimulated germination of two fire-following herbs of the California chaparral and the role of hemicellulose". *American Journal of Botany*, 73(9), 1289-1297. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb10870.x>
- Kochanek, J., Long, R. L., Lisle, A. T. ve Flematti, G. R. (2016). "Karrikins identified in biochars indicate post-fire chemical cues can influence community diversity and plant development". *PLoS ONE*, 11(8), 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161234>
- Korkmaz, K. (2007). "Alata Bahce Kulturleri". *Alatırım*, 6(2), 43-49. Retrieved from <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/19111#page=46>
- Kucera, B., Cohn, M. ve Leubner M., G. (2005). "Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination". *Seed Science Research*, 15, 281-307.
- Küden, A. ve Kaşka, N. (1990). "Investigations on propagation of temperate-zone fruit rootstocks and nursery stock under subtropical conditions". I. Production of seedling and vegetatively propagated rootstocks. *Doğa, Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 14(2), 129-138.
- Kulkarni, Manoj G., Ascough, G. D. ve Van Staden, J. (2008). "Smoke-water and a Smoke-isolated Butenolide Improve Growth and Yield of Tomatoes under Greenhouse Conditions". *Hort Technology*, 18(3), 449-454.
- Kulkarni, M. G., Sparg, S. G., Light, M. E. ve Van Staden, J. (2006). "Stimulation of rice (*Oryza sativa* L.) seedling vigour by smoke-water and butenolide". *Journal of Agronomy and Crop Science*, 192(5), 395-398. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2006.00213.x>
- Kulkarni, Manoj G., Ascough, G. D. ve Van Staden, J. (2007). "Effects of foliar applications of smoke-water and a smoke-isolated butenolide on seedling growth of okra and tomato". *HortScience*, 42(1), 179-182. <https://doi.org/10.21273/hortsci.42.1.179>
- Layne, R. E. C., Bailey, C. H. ve Hough, L. F. (1996). "Apricots. Janick, J. ve Moore, J. N. (ed.), İçinde Fruit breeding (1st ed., Vol. 1, s. 79-111). John Wiley ve Sons; New York.

- Ledbetter, C. A. (2008). Temperate Fruit Crop Breeding. Hancock, J. F. (ed.), İçinde Apricots (s. 39–82). Springer Science+Business Media B. V.
- Light, M. E., Daws, M. I. ve Van Staden, J. (2009). “Smoke-derived butenolide: Towards understanding its biological effects”. *South African Journal of Botany*, 75(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.10.004>
- Light, M. E., Gardner, M. J., Jäger, A. K. ve Van Staden, J. (2002). “Dual regulation of seed germination by smoke solutions”. *Plant Growth Regulation*, 37(2), 135-141. <https://doi.org/10.1023/A:1020536711989>
- Light, M. E., Burger, B. V., Staerk, D., Kohout, L. ve Van Staden, J. (2010). “Butenolides from plant-derived smoke: natural plant-growth regulators with antagonistic actions on seed germination”. *Journal of Natural Products*, 73(2), 267-269. <https://doi.org/10.1021/np900630w>
- Livak, K. J. ve Schmittgen, T. D. (2001). “Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real- Time Quantitative PCR and the 2-  $\Delta\Delta$ CT Method”. *Methods*, 25, 402-408.
- Maas, E. V. (1984). “Crop tolerance. California Agriculture”, 38(10), 20-21. Retrieved from [https://prod.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs144p2\\_067096.pdf%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001](https://prod.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs144p2_067096.pdf%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001)
- Madhava Rao, K. V. ve Sresty, T. V. S. (2000). “Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses”. *Plant Science*, 157(1), 113-128. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00273-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00273-9)
- Malook, I., Shah, G., Jan, M., Shinwari, K. I., Aslam, M. M., Rehman, S. ve Jamil, M. (2017). “Smoke priming regulates growth and the expression of myeloblastosis and zinc-finger genes in rice under salt stress”. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 42(6), 2207-2215. <https://doi.org/10.1007/s13369-016-2378-x>
- Mante, S., Scorza, R. ve Cordts, J. M. (1989). “Plant regeneration from cotyledons of *Prunus persica*, *Prunus domestica*, and *Prunus cerasus*”. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 19(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/BF00037771>
- Marín, J. A., Arbeloa, A. ve Daorden, M. E. (2002). “Stratification temperature affects the *in vitro* germination of immature *Prunus* embryos”. I International Symposium on Rootstocks for Deciduous Fruit Tree Species, 135-140.

- Marino, G., Bertazza, G., Magnanini, E. ve Altan, A. D. (1993). “Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy sources in micropropagation of apricot”. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34(3), 235-244. <https://doi.org/10.1007/BF00029712>
- Marino, G., Magnanini, E., Battistini, S. ve Righetti, B. (1991). “Effect of hormones and main carbon energy sources on *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) Cvs. “San Castrese” and “Portici”. *Acta Horticulturae*, s.355-362. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1991.293.42>
- Masondo, N. A., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F. ve Van Staden, J. (2018). “Influence of biostimulants-seed-priming on *Ceratotheca triloba* germination and seedling growth under low temperatures, low osmotic potential and salinity stress”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.017>
- Mathnoom, S. N. ve Abo Al-Timmen, W. M. (2020). “The effect of smoke water extract on endogenous phytohormones of *Cucumis sativus* L. seeds exposed to salt stress”. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(63-64), 1-11.
- Mayer, N. A., Bianchi, V. J., Feldberg, N. P. ve Morini, S. (2017). “Advances in peach, nectarine and plum propagation”. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(4). <https://doi.org/10.1590/0100-29452017>
- Merritt, D. J., Kristiansen, M., Flematti, G. R., Turner, S. R., Ghisalberti, E. L., Trengove, R. D. ve Dixon, K. W. (2006). “Effects of a butenolide present in smoke on light-mediated germination of Australian Asteraceae”. *Seed Science Research*, 16(1), 29-35.
- Munns, R. ve Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Nelson, D. C., Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. ve Smith, S. M. (2012). “Regulation of seed germination and seedling growth by chemical signals from burning vegetation”. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 107-130. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105545>
- Nelson, D. C., Riseborough, J. A., Flematti, G. R., Stevens, J., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. ve Smith, S. M. (2009). “Karrikins discovered in smoke trigger arabidopsis seed

- germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light". *Plant Physiology*, 149(2), 863-873. <https://doi.org/10.1104/pp.108.131516>
- Ochatt, S. J. ve Power, J. B. (1989). "Selection for salt and drought tolerance in protoplast- and explant-derived tissue cultures of Colt cherry (*Prunus avium* x *pseudocerasus*)". *Tree Physiology*, 5(2), 259-266. <https://doi.org/10.1093/treephys/5.2.259>
- Otlu, A., Öztürk, F. ve Asma, B. M. (2008). "Kayısının İnsan Sağlığına Etkileri Konusunda Yapılmış Bilimsel Araştırmalar. Malatya Valiliği Yayınları.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M. ve Kaptan, H. (1999). *Toprak Bilimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitapları Yayınları*, 73(A-16), 574-575.
- Pérez-Tornero, O., López, J. M., Egea, J. ve Burgos, L. (2000). "Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica* L.) cv. Canino". *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(3), 283-286. <https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511238>
- Polat, A. A. (2007). "The Effects of various stratification durations on germination and seedling emergence rates of apricot seeds the effects of various stratification durations on germination and seedling emergence rates of apricot seeds". *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(2), 45-48.
- Radhi, İ. M., Kahdim, A. A. ve Safan, H. S. (2013). "Effect of type and period stratification on Apricot seed germination and seedling growth (*Prunus armeniaca* L.)". *Jornal of Al-Muthanna for Agricultural Sciences*, 1(7).
- Rahnama, A., James, R. A., Poustini, K. ve Munns, R. (2010). "Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil". *Functional Plant Biology*, 37(3), 255-263. <https://doi.org/10.1071/FP09148>
- Rieger, M. (2001). "Salt stress resistance of peach and four north American prunus species". *Acta Horticulturae*, 557, 181-187. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2001.557.24>
- Schmidt, H. ve Ketznel, A. (1996). "*In vitro* culture techniques in sweet cherry breeding". *Acta Horticulturae*, 410, 111-114.



- Schulze, J. A., Lattier, J. D. ve Contreras, R. N. (2017). “*In vitro* germination of immature *Prunus lusitanica* seed”. HortScience, 52(8), 1122-1124. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11963-17>
- Sevgin, N. (2018). “*In vitro* effect of salt stress on *Prunus microcarpa* (potential of being a rootstock for all stone fruits) and some stone fruit rootstocks”. International Journal of Scientific and Technological Research, 4, 117.
- Shabir, S., Ilyas, N., Asif, S., Iqbal, M., Kanwal, S. ve Ali, Z. (2021). “Deciphering the role of plant-derived smoke solution in ameliorating saline stress and improving physiological, biochemical, and growth responses of wheat”. Journal of Plant Growth Regulation, 41(7), 2769-2786. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10473-5>
- Shah, F. A., Ni, J., Tang, C., Chen, X., Kan, W. ve Wu, L. (2021). “Karrikinolide alleviates salt stress in wheat by regulating the redox and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostasis”. Plant Physiology and Biochemistry, 167, 921-933. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.023>
- Shah, F. A., Wei, X., Wang, Q., Liu, W., Wang, D., Yao, Y., ... Wu, L. (2020). “Karrikin improves osmotic and salt stress tolerance via the regulation of the redox homeostasis in the oil plant *sapium sebiferum*”. Frontiers in Plant Science, 11(March), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00216>
- Shah, R. A., Sharma, A., Wali, V. K., Jasrotia, A. ve Plathia, M. (2013). “Effect of seed priming on peach, plum and apricot germination and subsequent seedling growth”. Indian Journal of Horticulture, 70(4), 591-594.
- Sharifi, P. ve Shirani Bidabadi, S. (2020). “Protection against salinity stress in black cumin involves karrikin and calcium by improving gas exchange attributes, ascorbate–glutathione cycle and fatty acid compositions”. SN Applied Sciences, 2(12), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03843-3>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. ve Pessaraki, M. (2012). “Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions”. Journal of Botany, 2012, 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>

- Sönmez, B., 2003. Türkiye Çoraklık Kontrol Rehberi, Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Teknik Yayın No: 33, Ankara.
- Sönmez, İ. ve Sönmez, S. (2007). “Tuzluluk ve gübreleme arasındaki ilişkiler”. Tarımın Sesi Dergisi, 16, 13–16.
- Soós, V., Sebestyén, E., Juhász, A., Pintér, J., Light, M. E., Staden, J. ve Balázs, E. (2009). “Stress-related genes define essential steps in the response of maize seedlings to smoke-water. Functional and Integrative Genomics”, 9(2), 231-242. <https://doi.org/10.1007/s10142-008-0105-8>
- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Khodambashi, M. ve Sofo, A. (2012). “Salt stress induction of some key antioxidant enzymes and metabolites in eight Iranian wild almond species”. Acta Physiologiae Plantarum, 34(1), 203-213. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0819-4>
- Stevens, J., Merritt, D., Flematti, G., Ghisalberti, E. ve Dixon, K. (2007). “Seed germination of agricultural weeds is promoted by the butenolide 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one under laboratory and field conditions”. Plant Soil, 298, 113-24.
- Suszka, B. (1967). “Studia nad spoczynkiem i kiełkowaniem nasion różnych gatunków z rodzaju Prunus L. Arboretum Kórnickie, 12, 221-282.
- Szymajda, M., Kris Pruski, K., Zurawicz, E. ve Sitarek, M. (2013). “Suitability of selected seed genotypes of prunus armeniaca l. for harvesting seeds for the production of generative rootstocks for apricot cultivars”. Journal of Agricultural Science, 5(9), 222-232. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n9p222>
- Szymajda, M., Żurawicz, Edward Maciorowski, R. ve Pruski, K. (2019). “Stratification period combined with mechanical treatments increase *Prunus persica* and *Prunus armeniaca* seed germination”. Dendrobiology, 81, 47-57.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P. ve McDonald, G. K. (2011). “Additive effects of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions on barley growth under salinity stress”. Journal of Experimental Botany, 62(6), 2189-2203. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq422>
- Tavşanoğlu, Ç. ve Gürkan, B. (2004). “Akdeniz havzasında bitkilerin kuraklık ve yangına uyumları”. OT Sistemik Tanık Dergisi, 11(1), 119-132.

- Tavşanoğlu, Ç. (2011). "Fire-related cues (heat shock and smoke) and seed germination in a *Cistus creticus* population in Southwestern Turkey". *Ekoloji*, 20(79), 99-104. <https://doi.org/10.5053/ekoloji.2011.7913>
- Tavşanoğlu, C., Ergan, G., Catav, S. S., Zare, G., Küçükakyüz, K. ve Özüdoğru, B. (2017). "Multiple fire-related cues stimulate germination in *Chaenorhinum rubrifolium* (Plantaginaceae), a rare annual in the Mediterranean Basin". *Seed Science Research*, 27(1), 26-38. <https://doi.org/10.1017/S0960258516000283>
- TEPGE. (2022). Ürün Raporu Kayısı. TEPGE Yayın No: 363
- Thomas, T. D. (2008). "The role of activated charcoal in plant tissue culture". *Biotechnology Advances*, 26(6), 618-631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
- Türkan, İ., Tokur, S. ve Öztürk, M. (1985). "Akdeniz ekosistemleri. Akdeniz Ekosistemleri", *Doğa Bilim Dergisi A*, 2, 9.
- Ural, A. (1995). Kayısının Besin Değeri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi. Malatya 3. Kayısı Fuarı 5. Kayısı Paneli (Tebliğler), 9-27. Malatya.
- Van Staden, J., Jäger, A. K., Light, M. E. ve Burger, B. V. (2004). "Isolation of the major germination cue from plant-derived smoke". *South African Journal of Botany*, 70(4), 654-659. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30206-4](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30206-4)
- Van Staden, J, Jager, A. ve Strydom, A. (1995). "Interaction between a plant-derived smoke extract, light and phytohormones on the germination of light-sensitive lettuce seeds". *Plant Growth Regul*, 17, 213-218.
- Van Staden, J., Brown, N. A. C., Jäger, A. K. ve Johnson, T. A. (2000). "Smoke as a germination cue". *Plant Species Biology*, 15(2), 167-178. <https://doi.org/10.1046/j.1442-1984.2000.00037.x>
- Van Staden, J., Sparg, S. G., Kulkarni, M. G. ve Light, M. E. (2006). "Post-germination effects of the smoke-derived compound 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one, and its potential as a preconditioning agent". *Field Crops Research*, 98(2-3), 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.007>

- Vardhini, B. ve Anjum, N. (2015). “Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system”. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 67.
- Vasebi, Y., Khakvar, R., Vinatzer, B., Faghihi, M. M. ve Saberivand, A. (2019). “Phenotypic Characterization and Grouping of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Strains, the Causal Agent of Apricot Canker in East Azerbaijan Province Based on Ice Nucleation Activity”. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 7(4), 19-36.
- Wang, H., Albuquerque, N., Burgos, L. ve Petri, C. (2011). “Adventitious shoot regeneration from hypocotyl slices of mature apricot (*Prunus armeniaca* L.) seeds: A feasible alternative for apricot genetic engineering”. *Scientia Horticulturae*, 128(4), 457-464. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.02.020>
- Wang, H., Petri, C., Burgos, L. ve Albuquerque, N. (2013). “Efficient *in vitro* shoot regeneration from mature apricot (*Prunus armeniaca* L.) cotyledons”. *Scientia Horticulturae*, 160, 300-305. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.013>
- Wang, T., Hao, R., Pan, H., Cheng, T. ve Zhang, Q. (2014). “Selection of suitable reference genes for quantitative real-time polymerase chain reaction in *Prunus mume* during flowering stages and under different abiotic stress conditions”. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2), 113-122. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.2.113>
- Wang, X. M., Huang, T., Wu, W. L., Li, W. L. ve Zhu, H. (2016). “Effects of salt stress on photosynthetic characteristics of beach plum and other *Prunus* species”. *Acta Horticulturae*, 1112(1), 233-240. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1112.32>
- Westwood, M. N. (1988). *Temperate-zone pomology*. Portland, Oregon: Timber Press.
- William, J. R. M. (1986). “The national and international importance of drought and salinity effects on agricultural production”. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 1-13.
- Ye, J. B., Chen, Q. W., Tao, T. T., Wang, G. ve Xu, F. (2016). “Promotive effects of 5-aminolevulinic acid on growth, photosynthetic gas exchange, chlorophyll, and antioxidative enzymes under salinity stress in *Prunus persica* (L.) Batsch seedling”. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(11), 786-795. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-06-647>

- Yıldırım, H. (2006). Hacıhaliloğlu'kayısı (*Prunus armeniaca* L.) çeşidinin *in vitro* Çoğaltımı (*In vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivar "Hacıhaliloğlu") Doktora Tezi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. s, 127.
- Yıldırım, H. (2012). "Bazı yerli kayısı çeşitlerinin *in vitro* embriyo kültürleri üzerine besi ortamı ve genotipin etkisi". Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2(2), 9-16.
- Yıldırım, H., Onay, A., Şimşek, M., Erdoğan, A. ve Ernim, C. (2011a). "Development of surface sterilisation techniques for the different explant types of apricot to use in micropropagation". Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 934-941. Şanlıurfa.
- Yıldırım, H., Onay, A., Tilkat, E. ve Aktürk, Z. (2011b). "Micropropagation of the apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Hacıhaliloğlu by means of single node culture". Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35(1), 55-64. <https://doi.org/10.3906/tar-0904-2>
- Yücecan, S. (1994). "Kayısının beslenmemizdeki yeri ve önemi". Standart Dergisi (Kayısı Özel Sayısı), 61-63.